MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA

A. Pumarola
A. Rodríguez-Torres
J. A. García-Rodríguez
G. Piédrola-Angulo

2ª edición

Salvat

R-630.559
5826718

615
MIC

MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA

A. PUMAROLA

Catedrático de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona;
Jefe de Departamento, Hospital Clínico y Provincial de Barcelona

A. RODRIGUEZ-TORRES

Catedrático de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid;
Jefe de Departamento, Hospital Clínico Universitario de Valladolid

J. A. GARCIA-RODRIGUEZ

Catedrático de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Salamanca;
Jefe de Departamento, Hospital Clínico Universitario de Salamanca

G. PIEDROLA-ANGULO

Catedrático de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada;
Jefe de Departamento, Hospital Clínico Universitario de Granada

COMUNIDAD DE MADRID - BIBLIOTECA PÚBLICA DEL RETIRO

2.ª edición

SALVAT EDITORES, S. A.

Barcelona - Madrid - Buenos Aires - Bogotá - Caracas - Lima - México - Miami
Quito - Rio de Janeiro - San Juan de Puerto Rico - Santiago de Chile

Indice de capítulos

1. **Microbiología y parasitología médica** 1
Agustín Pumarola
Evolución histórica, concepto y contenido . . 1
Microbiología y parasitología médica 1
Evolución histórica 1
Concepto y contenido 9

2. **El mundo microbiano** 11
Agustín Pumarola
Eucariotas, procariotas y virus 11
Células eucariota y procariota 11
Grandes grupos de organismos 14
Virus 21

Parte I

BACTERIOLOGIA GENERAL

3. **Estructura bacteriana (I)** 25
José Angel García-Rodríguez
Elementos obligados: pared celular, membrana citoplásmica y citoplasma 25
Pared celular 25
Membrana citoplásmica 30
Citoplasma bacteriano 32
Tinciones bacterianas 33

4. **Estructura bacteriana (II)** 35
José Angel García-Rodríguez
Núcleo. ADN cromosómico y extracromosómico 35
Núcleo bacteriano 35
ADN extracromosómico 41
Secuencias de inserción 46

5. **Estructura bacteriana (III)** 47
José Angel García-Rodríguez
Elementos facultativos: cápsula, glicocálix, flagelos y fimbrias. El esporo 47
Cápsula 47
Glicocálix 48
Flagelos 48
Fimbrias 51
Esporo 52

6. **Morfología, división y crecimiento de las bacterias** 56
José Angel García-Rodríguez
Morfología general 56
División bacteriana 60
Crecimiento bacteriano 62

7. **Fisiología bacteriana** 69
Gonzalo Piédrola-Angulo
Nutrición y metabolismo 69
Nutrición 69
Metabolismo 71
Medios de cultivo 76

8. **Bacteriófago** 80
Gonzalo Piédrola-Angulo
Morfología y estructura 80
Composición química 81
Acción de los agentes físicos y químicos . . . 82
Estructura antigénica 82
Acción biológica 82
Genética 87
Relación entre fagos y bacteriocinas 87
Aplicaciones prácticas 87

9. **Genética bacteriana** 89
Gonzalo Piédrola-Angulo
Variaciones fenotípicas o adaptaciones 89
Mutaciones 89
Transferencia genética 92
Ingeniería genética microbiana 96

10. **Sistemática bacteriana** 100
José Angel García-Rodríguez
Clasificación 100
Nomenclatura 104

11. **Agentes físicos y químicos** 107
Gonzalo Piédrola-Angulo
Agentes físicos 107
Agentes químicos 111
Mecanismo de acción 116
Valoración de desinfectantes 117

12. **Antimicrobianos** 120
José Angel García-Rodríguez
Historia 120
Definición 120

Clasificación 121
Acción de los antibióticos sobre las bacterias: espectro teórico de acción 122
Mecanismo de acción 123
Resistencia a los antibióticos 128
Bases para la utilización clínica de los antimicrobianos 129
Valoración de los antibióticos. 132
Estudio pormenorizado de los principales antimicrobianos de aplicación en clínica . . 133

13. Relación huésped-bacteria (I) 153
Agustín Pumarola
Modelos de relación. Flora normal 153
Modelos de relación huésped-bacteria 153
Flora microbiana normal 154

14. Relación huésped-bacteria (II) 161
Agustín Pumarola
Infección. Poder patógeno y virulencia. Factores determinantes de la acción patógena: colonización 161
Infección 161
Poder patógeno y virulencia 162
Factores determinantes de la acción patógena. 164
Colonización 164
Adherencia bacteriana 164

15. Relación huésped-bacteria (III) 171
Agustín Pumarola
Factores determinantes de la acción patógena: penetración, multiplicación e invasión . 171
Penetración. 171
Multiplicación 172
Invasión 173

16. Relación huésped-bacteria (IV) 178
Agustín Pumarola
Factores determinantes de la acción patógena: capacidad lesional.
Modelos de infección 178
Capacidad lesional 178
Modelos de infección 185
Infecciones mixtas. 187

17. Relación huésped-bacteria (V) 189
Agustín Pumarola
Resistencia inespecífica a la infección 189
Defensas externas 189
Defensas internas 192

Parte II

INMUNOLOGIA

18. El sistema inmunitario. Antígenos 205
Antonio Rodríguez-Torres
El sistema inmunitario 205
Antígenos 206
Definición 206
Determinantes antigénicos e inmunogénicos 206
Métodos de estudio de los antígenos. 207
Inmunogenicidad 208
Antigenicidad. 213
Antígenos naturales 214

19. Bases celulares de la respuesta inmunitaria. Respuesta celular. 219
José Angel García-Rodríguez
Bases celulares de la respuesta inmunitaria 219
Células. 219
Linfocitos 220
Macrófagos. 225
Otras células efectoras de la respuesta inmune 227
Cooperación celular 228
Sistema linfático-órganos linfáticos 230
Respuesta celular 234
Cinética de la respuesta celular 234
Evaluación de la respuesta celular. 237

20. Respuesta humoral: anticuerpos e inmunoglobulinas 239
Antonio Rodríguez-Torres
Estructura de las inmunoglobulinas 240
Antigenicidad de las Ig. 245
Propiedades biológicas. 247
Dinámica de la respuesta humoral. 249
Bases genéticas de la variabilidad y heterogeneidad de los anticuerpos 250
Anticuerpos monoclonales 253

21. Sistema complemento. 257
Antonio Rodríguez-Torres
Activación 259
Funciones biológicas. 264

22. Reacciones antígeno-anticuerpo 267
Antonio Rodríguez-Torres
Reacción de precipitación 268
Reacción de aglutinación. 273
Reacciones con intervención del complemento 276
Reacciones de inmunofluorescencia 277
Radioinmunoanálisis 277
Enzimoinmunoanálisis. 279
Reacciones de transferencia 280
Reacciones de neutralización y protección . . 280

23. Reacciones de hipersensibilidad 281
José Angel García-Rodríguez
Hipersensibilidad de tipo I o anafiláctica. . . 281
Hipersensibilidad de tipo II, citotóxica o citolítica 288
Hipersensibilidad de tipo III o mediada por complejos antígeno-anticuerpo 289
Hipersensibilidad de tipo IV, celular o retardada 291
Hipersensibilidad de tipo V o estimuladora. . 294

24. Inmunidad en las infecciones. Vacunas y sueros 295
Agustín Pumarola
Inmunidad en las infecciones 295

Vacunas 297
Vacunación 302
Sueros e inmunoglobulinas 305

Parte III

FUNDAMENTOS DE DIAGNOSTICO, EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

25. Diagnóstico de las infecciones 311
Gonzalo Piédrola-Angulo
Toma de la muestra 312
Diagnóstico directo 314
Diagnóstico indirecto 318

26. Epidemiología y profilaxis de las enfermedades infecciosas 320
Agustín Pumarola
Cadena de infección 320
Epidemiogénesis 325
Epidemiología hospitalaria 326
Esquema de profilaxis general 330

Parte IV

BACTERIOLOGIA SISTEMATICA

27. Staphylococcus 333
Agustín Pumarola
Concepto y clasificación 333
Staphylococcus aureus 333
Otras especies del género Staphylococcus . . 338
Diagnóstico bacteriológico 339
Tratamiento 341
Inmunidad y vacunas 342

28. Streptococcus 343
Agustín Pumarola
Concepto y clasificación 343
Estreptococos del grupo A (S. pyogenes) . . . 345
Estreptococos del grupo B 348
Estreptococos del grupo D 348
Estreptococos del grupo C, G y F 348
Estreptococos β-hemolíticos o viridans. . . . 348
Inmunidad 349
Diagnóstico bacteriológico 349
Tratamiento 352
Profilaxis. 352

29. Streptococcus pneumoniae (neumococo) . . . 353
Agustín Pumarola
Concepto y clasificación 353
Acción patógena 353
Patogenia y cuadros clínicos 353
Inmunidad 355
Diagnóstico bacteriológico 355
Tratamiento 356
Profilaxis: vacunas 356

30. Neisseria: N. meningitidis 358
Agustín Pumarola
Género Neisseria 358
Neisseria meningitidis (meningococo) 359

31. Neisseria gonorrhoeae (gonococo) 364
Agustín Pumarola
Concepto 364
Acción patógena 364
Patogenia y cuadros clínicos 365
Diagnóstico bacteriológico 366
Tratamiento 368
Epidemiología 368
Profilaxis. 368

32. Corynebacterium y Listeria 370
José Angel García-Rodríguez
Corynebacterium diphtheriae 370
Características y estructura antigénica. . . . 370
Acción patógena 370
Diagnóstico microbiológico 373
Tratamiento 374
Epidemiología 375
Profilaxis. 375
Listeria monocytogenes 376
Características generales. 376
Acción patógena 376
Diagnóstico. 378
Tratamiento 379
Epidemiología 379

33. Bacillus 381
Gonzalo Piédrola-Angulo
Género bacillus 381
Bacillus anthracis 381
Otros bacillus. 386

34. Clostridium. 387
José Angel García-Rodríguez
Clostridium tetani 388
Concepto y clasificación 388
Acción patógena 388
Diagnóstico. 390
Tratamiento 390
Epidemiología 391
Profilaxis. 391
Clostridium perfringens y otros clostridios no neurotóxicos 392
Acción patógena 393
Clostridium botulinum 399
Concepto y clasificación 399
Acción patógena 399
Diagnóstico. 400
Tratamiento 401
Epidemiología y profilaxis 401

35. Anaerobios no esporulados 403
José Angel García-Rodríguez
Ecología 404
Biología 404
Patogenia. 405
Diagnóstico. 408

Tratamiento de las infecciones por anaerobios . . . 410
Esquema de epidemiología y profilaxis . . . 412

36. Enterobacterias: caracteres generales 413
Agustín Pumarola
Concepto . . . 413
Propiedades y clasificación . . . 413
Clasificación . . . 414
Acción patógena . . . 416
Métodos generales de aislamiento e identificación . . . 418

37. Salmonella . . . 422
Agustín Pumarola
Concepto . . . 422
Propiedades y clasificación . . . 422
Acción patógena . . . 424
1. Gastroenteritis o enterocolitis, tipo toxiinfección alimentaria . . . 425
2. Infecciones bacteriémicas, tipo fiebre tifoidea . . . 427

38. Shigella y Escherichia (E. coli productores de diarrea) . . . 431
Agustín Pumarola
Shigella . . . 431
Concepto . . . 431
Propiedades y clasificación . . . 431
Acción patógena . . . 432
Diagnóstico bacteriológico . . . 433
Tratamiento . . . 434
Epidemiología . . . 434
Profilaxis . . . 435
Escherichia (E. coli productores de diarrea) . . . 435
Concepto . . . 435
Estructura antigénica . . . 435
Acción patógena . . . 436

39. Enterobacterias oportunistas . . . 441
Agustín Pumarola
Concepto . . . 441
Géneros más importantes, propiedades y clasificación . . . 441
Cuadros clínicos . . . 445
Diagnóstico bacteriológico . . . 447
Tratamiento . . . 448

40. Yersinia . . . 449
José Angel García-Rodríguez
Yersinia pestis . . . 449
Acción patógena . . . 449
Diagnóstico . . . 451
Tratamiento . . . 452
Epidemiología . . . 452
Profilaxis . . . 453
Yersinia enterocolitica y Yersinia pseudotuberculosis . . . 454
Acción patógena . . . 454
Diagnóstico . . . 454
Tratamiento . . . 455
Epidemiología y profilaxis . . . 455

41. Vibrio, Spirillum y Campylobacter . . . 456
José Angel García-Rodríguez
Género Vibrio . . . 456
V. cholerae . . . 457
Vibrio parahaemolyticus . . . 462
Géneros Aeromonas y Plesiomonas . . . 463
Spirillum . . . 463
Campylobacter . . . 464

42. Pasteurella, Francisella, Legionella y otros bacilos gramnegativos facultativos . . . 467
José Angel García-Rodríguez
Pasteurella . . . 467
Acción patógena . . . 467
Diagnóstico . . . 467
Tratamiento . . . 468
Epidemiología y profilaxis . . . 468
Francisella . . . 468
Acción patógena . . . 468
Diagnóstico . . . 469
Tratamiento . . . 470
Epidemiología y profilaxis . . . 470
Legionella . . . 470
L. pneumophila . . . 470
Determinantes de patogenicidad y patogénesis . . . 470
Manifestaciones clínicas . . . 471
Diagnóstico diferencial . . . 471
Diagnóstico microbiológico . . . 471
Tratamiento . . . 473
Epidemiología y profilaxis . . . 473
Otros bacilos gramnegativos anaerobios facultativos . . . 474
Género Gardnerella. G. vaginalis . . . 474
Género Eikenella. E. corrodens . . . 475
Género Chromobacterium. C. violaceum . . . 475
Género Cardiobacterium. C. hominis . . . 475
Género Calymmatobacterium. C. granulomatis . . . 476
Género Streptobacillus. S. moniliformis . . . 476

43. Pseudomonas y bacilos gramnegativos no fermentadores . . . 478
Gonzalo Piédrola-Angulo
Pseudomonas . . . 478
Pseudomonas aeruginosa . . . 479
Otras Pseudomonas . . . 483
Otros bacilos gramnegativos no fermentadores 483
Otros géneros . . . 485

44. Haemophilus y Bordetella . . . 486
Gonzalo Piédrola-Angulo
Haemophilus . . . 486
Haemophilus influenzae . . . 486
Otros haemophilus . . . 489
Bordetella . . . 489
Bordetella pertussis . . . 490
Otras especies de Bordetella . . . 493

45. Brucella . . . 495
Antonio Rodríguez-Torres
Concepto . . . 495
Propiedades biológicas y clasificación . . . 495

Constitución antigénica 496
Acción patógena 497
Diagnóstico 498
Tratamiento 500
Epidemiología 500
Profilaxis 500

46. Actinomyces y Nocardia 502
José Angel García-Rodríguez
Actinomyces 502
Clasificación y características 502
Acción patógena 503
Diagnóstico bacteriológico 504
Tratamiento 505
Epidemiología y profilaxis 505
Nocardia 505
Taxonomía y clasificación 505
Composición química 505
Acción patógena 506
Diagnóstico bacteriológico 508
Tratamiento 509
Epidemiología y profilaxis 509

47. Mycobacterium 511
José Angel García-Rodríguez
Mycobacterium tuberculosis 511
Patogenia 511
Síntomas y signos clínicos 515
Diagnóstico 516
Tratamiento 518
Epidemiología y profilaxis 519
Mycobacterium leprae 520
Patogenia 520
Clasificación 522
Evolución clínica 522
Diagnóstico 524
Tratamiento 524
Epidemiología y profilaxis 525
Micobacterias atípicas 526
Clasificación 527
Acción patógena 528
Diagnóstico 530
Tratamiento 532
Epidemiología y profilaxis 532

48. Espiroquetas: Treponema y Borrelia 534
Antonio Rodríguez-Torres
Treponema: Treponema pallidum 535
Concepto 535
Morfología, estructura y propiedades 536
Constitución antigénica 536
Epidemiología 537
Acción patógena 537
Diagnóstico de laboratorio 539
Tratamiento 541
Profilaxis 541
Otras treponematosis 541
Borrelia. Fiebres recurrentes 542
Concepto 542
Morfología, estructura y propiedades 542
Clasificación 542
Constitución antigénica 542
Epidemiología 542
Acción patógena 543
Diagnóstico de laboratorio 543
Tratamiento y profilaxis 543
Borrelia burgdorferi y enfermedad de Lyme . 543

49. Leptospira 544
Agustín Pumarola
Concepto 544
Estructura, composición antigénica y clasificación 544
Epidemiología 545
Patogenia y cuadro clínico 546
Diagnóstico de laboratorio 547
Tratamiento 549
Profilaxis 549

50. Micoplasmas 551
Agustín Pumarola
Concepto 551
Clasificación 551
Propiedades generales 552
Acción patógena 553
Cuadros clínicos 554
Diagnóstico bacteriológico 555
Tratamiento 556
Epidemiología 556
Profilaxis 557

51. Rickettsias 558
José Angel García-Rodríguez
Taxonomía 558
Familia I: Rickettsiaceae 558
Morfología 559
Estructura antigénica y clasificación 559
Acción patógena 560
Diagnóstico 562
Tratamiento etiológico 564
Esquema de epidemiología y profilaxis . . . 564
Profilaxis 565
Otras familias 565
Familia II: Bartonellaceae 565
Familia III: Anaplasmataceae 565

52. Chlamydia 567
Agustín Pumarola
Concepto 567
Clasificación 567
Morfología y propiedades 567
Ciclo de desarrollo intracelular 569
Estructura antigénica 569
Acción patógena y cuadros clínicos 569
Infecciones persistentes y latentes 571
Diagnóstico 571
Tratamiento 572
Epidemiología 572
Profilaxis 573

Parte V

VIROLOGIA

53. Virología general (I) 577
Agustín Pumarola

Concepto de virus 577
Tamaño 577
Morfología y estructura 577
Agentes infecciosos subvirales 582
Composición química y propiedades 582
Acción de los agentes físicos y químicos . . . 584
Clasificación 585
Cultivo de los virus 586
Mecanismo de replicación 592
Genética 597
Antígenos 599

54. Virología general (II) 601
Agustín Pumarola
Acción patógena y patogenia 601
Modelos de infección 605
Resistencia e inmunidad 608
Diagnóstico 613
Profilaxis y tratamiento 618

55. Poxvirus 621
Gonzalo Piédrola-Angulo
Caracteres generales de los poxvirus 621
Viruela 623
Vacuna 626
Monkeypox 626
Cowpox 626
Parapoxvirus 626
Molluscum contagiosum 626
Tanapox y Yaba 626

56. Herpesvirus 628
Gonzalo Piédrola-Angulo
Virus del herpes simple 628
Virus de la varicela-herpes zoster 630
Citomegalovirus 632
Virus de Epstein-Barr 633

57. Adenovirus y parvovirus 636
Agustín Pumarola
Adenovirus 636
Concepto 636
Morfología 636
Cultivo 636
Estructura antigénica 637
Hemaglutinación 638
Acción oncógena 638
Cuadro clínico 638
Infecciones inaparentes y latentes 639
Diagnóstico 640
Epidemiología 640
Profilaxis 640
Parvovirus 640

58. Picornavirus 642
Agustín Pumarola
Concepto y clasificación 642
Enterovirus 642
Características generales 643
Poliovirus 644
Virus Coxsackie, virus Echo y enterovirus 68-71 648
Rinovirus 650
Características generales 650
Acción patógena 650
Diagnóstico 650
Epidemiología 651
Profilaxis. Vacuna 651

59. Reovirus 652
Agustín Pumarola
Concepto y clasificación 652
Género reovirus u orthoreovirus 652
Género orbivirus 652
Género rotavirus 653
Gastroenteritis vírica 654

60. Arbovirus: togavirus, bunyavirus y orbivirus 657
Agustín Pumarola
Concepto 657
Propiedades y clasificación 657
Epidemiología 660
Acción patógena 660
Diagnóstico 665
Tratamiento 665
Profilaxis 665

61. Arenavirus, virus Marburg y Ebola 666
Agustín Pumarola
Arenavirus 666
Concepto general y clasificación 666
Virus de la coriomeningitis linfocitaria . . . 666
Virus de la fiebre de Lassa 667
Virus de las fiebres hemorrágicas argentina y boliviana 667
Virus Marburg y Ebola (filoviridae) 668

62. Orthomyxovirus 670
Agustín Pumarola
Concepto 670
Morfología, estructura y función 670
Estructura antigénica y clasificación 672
Variaciones antigénicas 672
Períodos de prevalencia de las variantes . . . 674
Epidemiología serológica y circulación de los subtipos 674
Modelos epidemiológicos de gripe 675
Patogenia 676
Cuadros clínicos 677
Gripe animal 677
Diagnóstico de laboratorio 678
Inmunidad 679
Tratamiento 679
Profilaxis. Vacunas 679
Vigilancia epidemiológica 681

63. Paramixovirus y coronavirus 683
Agustín Pumarola
Paramixovirus 683
Concepto y clasificación 683
Virus parainfluenza 684
Virus respiratorio sincitial 686
Virus de la parotiditis 687
Virus del sarampión 689
Coronavirus 691

64. Virus de la rubéola 693
Agustín Pumarola
Propiedades y clasificación 693
Acción patógena 693
Cuadros clínicos 693
Diagnóstico 694
Profilaxis 696

65. Rabdovirus: virus rábico 697
José Angel García-Rodríguez
Tamaño, morfología y composición 697
Sensibilidad a los agentes físicos y químicos 698
Replicación vírica 698
Estructura antigénica 699
Patogenia 699
Manifestaciones clínicas 700
Complicaciones 700
Diagnóstico 700
Tratamiento 701
Epidemiología 701
Profilaxis 702

66. Virus de las hepatitis 704
Gonzalo Piédrola-Angulo
Hepatitis A 704
Hepatitis B 706
Hepatitis delta 714
Hepatitis no-A no-B 714

67. Virus e infecciones lentas 716
Gonzalo Piédrola-Angulo
Concepto 716
Patogenia 716
Clasificación 718

68. Virus oncógenos. Retrovirus 722
Gonzalo Piédrola-Angulo
Transformación vírica de las células 722
Virus ADN oncógenos en animales 722
Virus ADN y cáncer humano 725
Retrovirus 727
Morfología 728
Estructura y replicación 729
Especificidad de huésped y mecanismo de transmisión 731
Patogenia 731
Retrovirus humanos 732
HTLV I, II y leucemia humana 732
HTLV II 735
Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) 735
Otros retrovirus en humanos 742
Teorías de la oncogénesis vírica 742

Parte VI

MICOLOGIA

69. Micología general 747
Gonzalo Piédrola-Angulo
Caracteres generales 747
Metabolismo 748
Reproducción 749
Clasificación 751
Acción patógena 753
Inmunología 754
Diagnóstico 755
Tratamiento 756
Epidemiología y profilaxis 757
Ficología médica 757

70. Hongos productores de micosis superficiales y cutáneas 759
Gonzalo Piédrola-Angulo
Tiñas 759
Micosis superficiales 769

71. Hongos productores de micosis sistémicas y subcutáneas 771
Gonzalo Piédrola-Angulo
Histoplasma capsulatum 771
Coccidioides immitis 773
Blastomyces dermatitidis 774
Paracoccidioides brasiliensis 775
Sporothrix schenckii 775
Otras micosis sistémicas y subcutáneas . . . 776

72. Hongos oportunistas 779
José Angel García-Rodríguez
Taxonomía 779
Género Candida: Candida albicans 779
Hábitat 779
Mecanismos de defensa del huésped frente a Candida SPP 779
Factores favorecedores 780
Determinantes de patogenicidad 781
Clínica 781
Diagnóstico 783
Características de las colonias 783
Diagnóstico indirecto 785
Género Torulopsis: Torulopsis glabrata 785
Género Rhodotorula 785
Género Cryptococcus: Cryptococcus neoformans 786
Taxonomía 786
Determinantes de patogenicidad 786
Resistencia frente a Cryptococcus neoformans 786
Factores predisponentes 786
Clínica 786
Diagnóstico 787
Epidemiología y profilaxis 787
Tratamiento 788
Género Aspergillus 788
Taxonomía 788
Acción patógena 788
Diagnóstico 790
Epidemiología y profilaxis 791
Tratamiento 792
Géneros Mucor, Rhizopus y Absidia 792

Parte VII

PARASITOLOGIA

73. Parasitología general 797
Gonzalo Piédrola-Angulo
Generalidades 797
Parásito 797
Huésped 798
Relación huésped-parásito 799
Inmunología 800
Clínica 803
Diagnóstico 803
Tratamiento 804
Epidemiología 804
Profilaxis 804
Apéndice: diagnóstico parasitológico en las heces 805

74. Protozoos: Sarcodina y Ciliophora 807
José Angel García-Rodríguez
Sarcodina: Entamoeba 808
E. histolytica 808
Naegleria 814
Acanthamoeba 815
Ciliophora 815
Balantidium coli 815

75. Mastigophora
José Angel García-Rodríguez
Protozoos flagelados 819
Hemoflagelados 819
Leishmania 820
L. donovani 820
L. tropica 823
L. braziliensis y L. mexicana 824
Trypanosoma 824
T. gambiense y T. rhodesiense 825
T. cruzi 827
Giardia 828
G. intestinalis 828
Trichomonas 830
T. vaginalis 830

76. Sporozoa: Plasmodium 832
José Angel García-Rodríguez
Ciclo biológico 832
Patogénesis 835
Manifestaciones clínicas 837
Diagnóstico 839
Tratamiento 840
Epidemiología 841
Profilaxis 842

77. Toxoplasma, Pneumocystis, Isospora, Sarcocystis y Cryptosporidium 844
José Angel García-Rodríguez
Toxoplasma gondii 844
Aspectos históricos 844
Morfología 844
Ciclo biológico 847
Patogenia 847
Inmunidad 848
Formas clínicas 848
Diagnóstico 849
Tratamiento 851
Epidemiología 852
Profilaxis 852
Pneumocystis carinii 852
Morfología y ciclo 853
Patogenia 853
Manifestaciones clínicas 854
Diagnóstico 854
Tratamiento 854
Epidemiología 854
Profilaxis 855
Isospora Belli y Sarcocystis 855
Cryptosporidium 855

78. Helmintos: Trematodos 857
Gonzalo Piédrola-Angulo
Concepto y clasificación de los helmintos . . . 857
Trematodos 857
Concepto y clasificación 857
Fasciola 859
Schistosoma 863

79. Cestodos 866
Gonzalo Piédrola-Angulo
Concepto y clasificación 866
Parasitismo por cestodos adultos 868
Parasitismos por fases larvarias de cestodos 871

80. Nematodos. Nematodos intestinales 877
Gonzalo Piédrola-Angulo
Nematodos 877
Nematodos intestinales 878
Lombrices del hombre 878
Uncinariasis 881
Strongyloides stercolaris 883
Larvas migratorias 884

81. Nematodos tisulares 886
Gonzalo Piédrola-Angulo
Trichinella spiralis 886
Capillaria hepática 888
Filarias que parasitan al hombre 888

82. Artrópodos de interés sanitario 891
Gonzalo Piédrola-Angulo
Morfología general 891
Ciclo evolutivo 892
Importancia médico-sanitaria 892
Clasificación 894
Arachnida 894
Acarina 894
Araneida 897
Scorpionida 898
Insecta 898
Diptera 900
Heteroptera 904
Siphonaptera 905
Anoplura 906
Otros insectos de interés 907

Indice alfabético de materias 909

Capítulo 1

Microbiología y parasitología médica

Agustín Pumarola

EVOLUCION HISTORICA, CONCEPTO Y CONTENIDO

MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA

La microbiología y la parasitología son dos ciencias que se ocupan, respectivamente, del conocimiento de los microbios y de los parásitos. Ambas disciplinas estudian un conjunto de seres vivos, que delimitan desde puntos de vista diferentes. La microbiología investiga la biología de los organismos microscópicos o microorganismos, mientras que la parasitología se refiere a todos los seres vivos, microscópicos o no, cuya supervivencia depende de una estrecha asociación con otros seres vivos. Ambas ciencias derivan de la biología, pero mientras que la microbiología se considera una rama de la biología sistemática que se ocupa de los microorganismos, la parasitología es una rama de la ecología que investiga el fenómeno del parasitismo y los parásitos, independientemente de su tamaño y complejidad estructural; no obstante, la parasitología médica se refiere fundamentalmente a los parásitos del reino animal. Estos dos enfoques en el estudio de los seres vivos hace que en algunos casos se entrecrucen y existan organismos que presenten caracteres de ambos grupos.

La microbiología y parasitología médica es, por tanto, una disciplina aplicada, rama de la biología sistemática y de la ecología, que trata de los microbios y de los parásitos en cuanto son capaces de producir enfermedades en el hombre (fig. 1-1). Incluye las bacterias, hongos, virus, protozoos, helmintos y artrópodos, de los cuales los dos primeros se consideran netamente como microbios y los dos últimos, como parásitos. Los virus, agentes infecciosos de estructura subcelular, por su tamaño submicroscópico se agrupan con los primeros, y los protozoos gozan de una posición intermedia o ambivalente, pues, si bien por su tamaño se incluyen entre los microbios, se acostumbra estudiarlos con los parásitos.

EVOLUCION HISTORICA

La microbiología constituye, mejor que cualquier otra rama de la biología, un ejemplo de las complejas interrelaciones entre las ciencias, y su historia está en gran parte directamente relacionada con los adelantos que abrieron nuevos campos a la investigación.

Descubrimiento de los microbios

Por ser invisibles la mayoría de las bacterias, no es de extrañar que su descubrimiento se produjera cuando por el desarrollo de la ciencia óptica se pudieron obtener lentes de un poder de resolución elevado. Sin embargo, ya antes de esta época, la observación de los fenómenos de putrefacción de la materia orgánica, de las enfermedades infecciosas, de las fermentaciones y de otros procesos naturales llevó a considerar la existencia de microorganismos. En 1546, Fracastoro de Verona sugiere la existencia de un *contagium vivum* como causa de enfermedad, y Von Plenciz, en 1763, aboga por vez primera por el criterio de especificidad de las enfermedades infecciosas; no obstante, estas afirmaciones eran simples suposiciones carentes en absoluto de base experimental.

Aunque, en 1559, Kircher señala la presencia de «pequeños gusanos» en la sangre de los enfermos de peste bubónica, las primeras observaciones fueron realizadas por un comerciante holandés, Anton van Leeuwenhoek a fines del siglo XVII y comienzos del XVIII. Autor dotado de gran curiosidad, construyó las lentes más perfeccionadas de la época (fig. 1-2), con las que pudo observar una gran variedad de microbios en las aguas estancadas, infusiones y sarro denta-

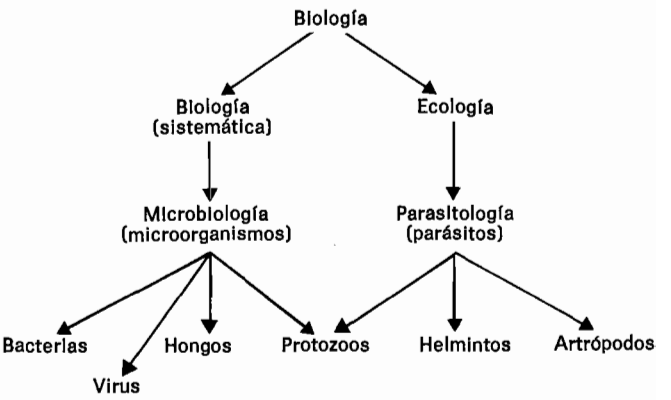


Fig. 1-1. La doble perspectiva de la microbiología y parasitología médica.

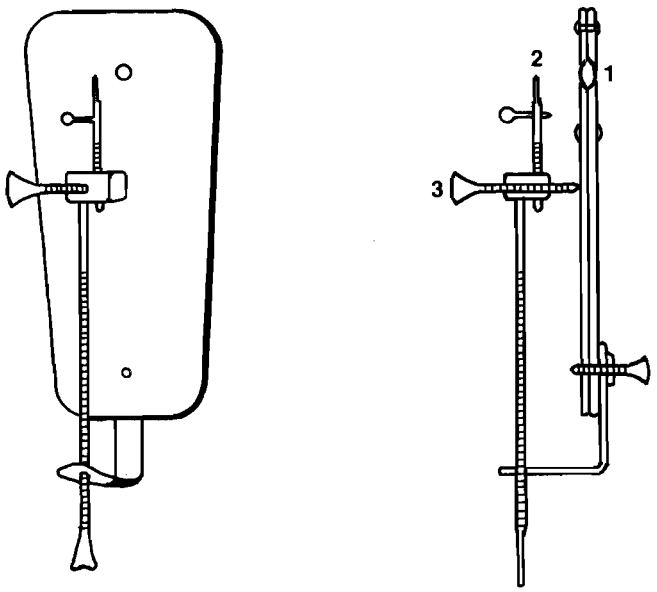


Fig. 1-2. Microscopio de Leeuwenhoek: 1) lente, 2) lugar de colocación del objeto que se debe observar y 3) tornillo de enfoque.

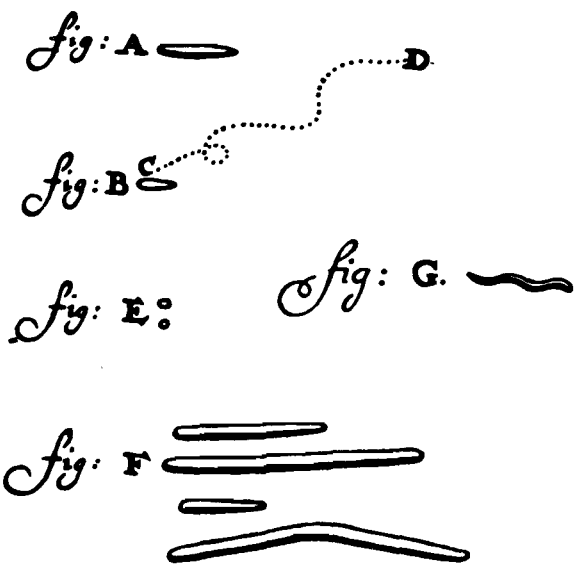


Fig. 1-3. Dibujos de bacterias de la boca (Leeuwenhoek, 1683). Se observan bacilos (A, B, C, D, F), cocos (E) y espirilos (G).

rio. El 24 de abril de 1676 comunicó, a la Royal Society de Londres, la observación de un increíble número de pequeños animales o «animalículos» que presentaban formas diversas: esféricas, cilíndricas o en espiral (fig. 1-3). Dado que utilizó lentes simples con un máximo de 300 aumentos, es de suponer que sólo observó bacterias de gran tamaño, pero sus descripciones constituyeron una de las contribuciones más importantes en el campo de la biología.

Un siglo más tarde, el zoólogo danés Muller inicia el estudio morfológico de las bacterias y es el primero en intentar un sistema de clasificación siguiendo las reglas de la nomenclatura binaria de Linneo. Estos estudios fueron proseguidos, a comienzos del siglo XIX, en primer lugar por Ehrenberg, quien efectúa la descripción y denominación de un buen número de especies, algunas de las cuales (*Spirochaeta, Spirillum, Bacterium*) aún se mantienen en la actualidad; más tarde por Nägeli (1857), que, al considerar las bacterias como vegetales elementales que se dividen por bipartición, introduce la denominación de esquizomicetos, y sobre todo por Cohn, profesor de botánica, que, basándose en la teoría monomorfista, inicia los estudios de taxonomía bacteriana que le conducen a establecer la primera clasificación de las bacterias sobre una base morfológica. Sin embargo, estos trabajos pasaron en gran parte inadvertidos debido a la extraordinaria repercusión de la obra de Louis Pasteur.

Fermentaciones y teoría de la generación espontánea

Pasteur (fig. 1-4), que originalmente tuvo una formación de químico, realizó sus primeros trabajos sobre estereoisomería. La formación, en el curso de la fermentación láctica, de alcohol amílico ópticamente activo orientó su atención hacia los procesos fermentativos. La demostración de la naturaleza vegetal de las levaduras y su función biológica en la fermentación, efectuada por Caignard-Latour, permitió a Schwann y Kutzing (1836) llegar a la conclusión de que los procesos fermentativos eran debidos a la actividad de microorganismos o fermentos vivos y no a productos de descomposición, como sostenían las teorías de Berzelius, Liebig y Wholer. A partir de 1857 y en los 20 años siguientes se dedicó al estudio de gran número de procesos fermenta-

Fig. 1-4. Louis Pasteur (1822-1895).

tivos, en especial de la fermentación alcohólica, acética y butírica, y demostró que esta última era producida por microorganismos que sólo podían vivir en ausencia de oxígeno, lo que permitió establecer el concepto de anaerobiosis.

Las investigaciones de Pasteur lo llevaron más allá, ya que no solamente sentó las bases de los procesos fermentativos, sino que sus resultados le permitieron abordar el problema de la generación espontánea de la vida.

Durante muchos años se había aceptado la idea de que algunos organismos vivos se producían espontáneamente en el curso de los procesos de descomposición de las sustancias orgánicas. Pero ya en esta época existían observaciones en contra de dicha teoría, pues un monje italiano, Lazzaro Spallanzani (1730-1800), había demostrado que, si las infusiones orgánicas se calientan de forma adecuada en recipientes cerrados, no se produce el desarrollo de organismos vivos; estos datos fueron combatidos duramente por Needhan en una serie de experiencias paralelas.

Posteriormente, Schulze, Schwann, Schroeder y Von Dusch pudieron comprobar que, si la infusión calentada se protege del aire en un recipiente herméticamente cerrado o el aire se hace pasar a través de un tubo calentado o de un filtro de algodón colocado en el cuello del matraz, no se desarrollan microorganismos y demostraron así que la fuente de contaminación era el aire, por las partículas de polvo que contenía. A pesar de ello, la controversia continuó en 1860 por obra de Pouchet, hasta que fue dilucidada definitivamente por Pasteur en una serie de ingeniosos experimentos, en los que demostró que las infusiones de carne calentadas podían permanecer estériles incluso en matraces abiertos, a condición de que se hiciera penetrar aire calentado o se dificultara el acceso de los microorganismos. Para ello ideó unos matraces en «cuello de cisne» (fig. 1-5), con los que consiguió mantener estériles las infusiones, pero, si se rompía el cuello, facilitando el paso directo del aire y de las partículas de polvo, se contaminaba el medio de cultivo.

También observó que la rapidez de contaminación difería según el lugar donde se efectuaba el experimento (población, campo, montaña) y demostró, sin lugar a dudas, que, en las partículas de polvo del aire, los microorganismos se encuentran en cantidades variables según el lugar de captación y que, cuando la materia orgánica se somete suficientemente a la acción del calor y se protege del aire, se evitan la putrefacción y la aparición de microorganismos.

Estos hechos fueron comprobados más tarde por Tyndall (1877) al observar que las infusiones de heno eran más difíciles de esterilizar debido a la presencia de formas resistentes al calor (esporas) y señaló la necesidad de proceder a un calentamiento discontinuo para obtener la esterilización de la infusión, método que desde entonces se conoce con el nombre de tindalización.

Al haberse demostrado que la vida proviene de la vida (biogénesis) y no es generada espontáneamente a partir de materiales no vivos (abiogénesis), no fue difícil probar que los procesos fermentativos no eran más que la consecuencia del desarrollo de microorganismos y que las diversas fermentaciones se debían a la acción de diferentes clases de microbios; así surgió el concepto de especificidad. Más tarde, al estudiar las enfermedades del vino y de la cerveza, se observó que se trataba de fermentaciones secundarias debidas a contaminación por otros microorganismos. Estas contaminaciones se podían evitar tratando los caldos por el calor, procedimiento denominado de pasteurización.

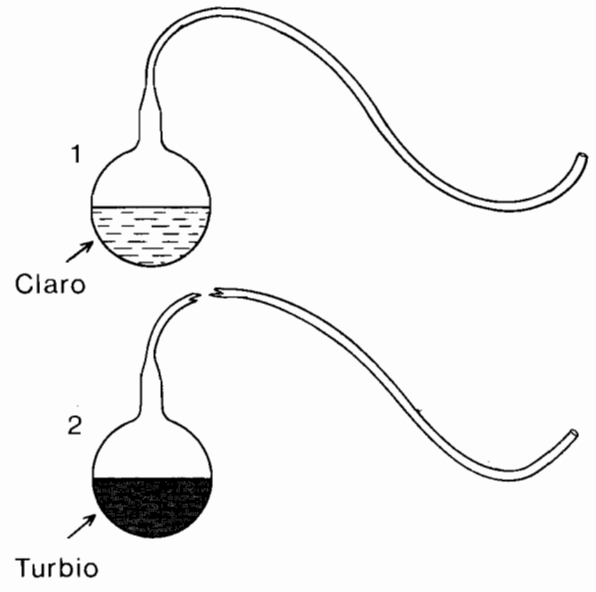


Fig. 1-5. Matraces en «cuello de cisne», de Pasteur: 1) el cuello largo y ondulado evita la penetración de partículas de polvo portadoras de bacterias y el medio de cultivo permanece estéril (claro). 2) Matraz con el cuello roto y el medio contaminado (turbio).

Teoría microbiana de las infecciones y la bacteriología médica

La semejanza de los procesos fermentativos con las enfermedades infecciosas hizo que pronto se considerara el papel causal de los microorganismos y se emitió la teoría microbiana de las enfermedades infecciosas, que rápidamente fue admitida por gran número de médicos y biólogos, aunque hasta la primera mitad del siglo XIX no tuviera su confirmación experimental. En 1850, Rayer y Davaine descubrieron en la sangre de los animales enfermos el agente causal del carbunco, que consiguieron transmitir por inoculación a otros animales. Unos años antes, Semmelweis (1847), al estudiar las causas de la elevada mortalidad por infecciones en la Maternidad de Viena, había sugerido que se debían a microorganismos transmitidos por las manos durante la exploración de las puérperas y señalado la importancia del lavado de las manos con cloruro de cal. Posteriormente estos hechos fueron confirmados por el cirujano inglés Lister (1887), que con el empleo de sustancias químicas bactericidas, como el fenol y bicloruro de mercurio, para el lavado de las heridas, manos y material quirúrgico, e incluso para la pulverización del aire, logró un gran descenso de las cifras de mortalidad postoperatoria y sentó las bases de la desinfección y antisepsia.

Era preciso, sin embargo, desarrollar los métodos experimentales para que se pudiera progresar en este campo. Una de las mayores dificultades residía en el aislamiento de las bacterias en cultivo puro, pero con el descubrimiento de los medios sólidos por Robert Koch (fig. 1-6) se realizó una aportación decisiva al progreso de la bacteriología, ya que sus procedimientos persisten en la actualidad prácticamente sin modificar. Esto le permitió establecer las condiciones que se deben exigir a un microorganismo para ser considerado como el agente causal de una enfermedad infecciosa determinada, que desde entonces se conocen con el nombre de «postulados de Koch», a saber: *a)* que se demuestre su

Fig. 1-6. Robert Koch (1843-1910).

presencia en todos los casos de enfermedad y su ausencia en las personas sanas; *b)* que se pueda aislar en cultivo puro a partir de las lesiones; *c)* que inoculado a un animal de experimentación susceptible reproduzca la enfermedad, y *d)* que se aísle de nuevo a partir de las lesiones producidas en los animales.

Mientras que Pasteur debe ser considerado como el fundador de la microbiología, a Koch se debe la introducción al método experimental.

Los métodos de aislamiento y de tinción de las bacterias, desarrolladas por Koch, Ehrlich, Weigert y Gram, dieron tal impulso a los estudios de bacteriología médica que las dos décadas siguientes constituyeron la primera edad de oro de esta ciencia. Al descubrimiento del agente causal del carbunco siguieron otros con impresionante rapidez. En 1882, Koch aisló el bacilo de la tuberculosis y, en 1883, el vibrión colérico. En este mismo año, Klebs describió el bacilo diftérico y Loeffler (1884) lo aisló y estudió. Fraenckel, en 1886, descubrió el neumococo, y al año siguiente Weichselbaum aisló el meningococo. En 1889, Kitasato cultivó el bacilo tetánico; en 1894, Yersin aisló el bacilo de la peste, etc.

Métodos de profilaxis y tratamiento

A la vez que se aislaban en rápida sucesión los agentes causales de las enfermedades infecciosas, se descubrían los mecanismos de la inmunidad y los métodos para combatirlas, como las vacunas, los sueros antitóxicos y los quimioterápicos.

Vacunas

Desde hacía tiempo se conocía que las personas que habían padecido una enfermedad infecciosa presentaban un estado específico de resistencia que las protegía frente a nuevos ataques por el mismo agente, estado que podía persistir durante mucho tiempo. Por este motivo, en China y países asiáticos se recurría en la antigüedad a métodos empíricos de inoculación voluntaria, para lograr la inmunización frente a las enfermedades infecciosas más importantes de la época. Tal es el caso de la *variolización*, que se efectuaba mediante inoculación del virus de la viruela (costras, linfas) por procedimientos rudimentarios a través de la mucosa nasal o de la piel por puntura o incisión. Estas prácticas se generalizaron en los países de Oriente Medio, y en el siglo XVII la esposa del embajador inglés en Constantinopla las introdujo en Europa, pero tuvieron poca difusión, ya que ocasionaban cierta mortalidad en los inoculados y, además, podían constituir focos de infección a partir de los cuales se diseminaba la enfermedad.

La primera vacuna que se empleó en la profilaxis de las enfermedades infecciosas fue la de la viruela y su descubrimiento se debe a Edward Jenner. En 1796, Jenner, médico inglés del condado de Gloucester, realizó una observación fundamental al comprobar que los ordeñadores que se habían infectado en las manos con viruela bovina *(cowpox)* no padecían viruela humana *(smallpox)*; esto le llevó a practicar inoculaciones por escarificación en la piel con linfa de viruela bovina y observó que se producía una infección localizada leve que protegía frente a la viruela humana. Este descubrimiento permitió sustituir la variolización por la primera vacuna atenuada, preparada a partir del virus de la viruela bovina o vacuna, relacionado directamente con el virus de la viruela humana, pero poco patógeno para el hombre.

Más tarde Pasteur, estudiando el cólera de las gallinas y el carbunco, determinó un principio básico en inmunología: la inoculación de microorganismos atenuados da lugar al desarrollo de un alto grado de resistencia específica o inmunidad. La aplicación práctica de este principio le llevó a la obtención de vacunas atenuadas por métodos empíricos: por acción del tiempo (cultivos viejos), del calor y de la desecación. De esta manera preparó las primeras vacunas animales, como la vacuna del cólera de las gallinas (1879) y del carbunco (1881), y poco después la vacuna antirrábica humana (1885).

En 1886, Salmon y Teobald Smith demostraron que la administración, por vía parenteral, de microorganismos muertos también induce un estado de resistencia, con lo que se inició la etapa de las vacunas muertas o inactivadas, sea por el calor o por diversas sustancias químicas, y surgieron la vacuna de la fiebre tifoidea, de Chantemesse y Widal (1888) y de Wright (1896), la vacuna del cólera, de Haffkine (1892), y la vacuna de la tos ferina, de Madsen (1923).

Al final de esta época se observó que en las bacterias toxigénicas era posible separar la exotoxina del soma bacteriano y, en 1924, Ramón, mediante tratamiento por calor y formol, consiguió la desaparición de la acción tóxica manteniendo su poder inmunógeno. Obtenidas así las anatoxinas o toxoides, se sentaron las bases para la preparación de las vacunas antitóxicas, como las de la difteria y del tétanos, que pueden considerarse como las primeras vacunas preparadas con antígenos purificados.

Inmunología y sueros antitóxicos

Como consecuencia del aislamiento de nuevos agentes infecciosos y de las investigaciones sobre las vacunas, surgió una nueva ciencia, la inmunología, que ha tenido un amplio desarrollo.

En 1882, Mevnikov, examinando al microscopio una larva de estrella de mar que había atravesado con una espina de rosal, observó la rápida acumulación alrededor del cuerpo extraño de células dotadas de movimientos ameboides. Más tarde, inoculando microorganismos en animales de experimentación, comprobó el mismo fenómeno seguido de la incorporación de las bacterias y su digestión; pudo demostrar que este proceso ocurre con mayor rapidez si el animal está inmunizado. Estas experiencias le permitieron descubrir el fenómeno de la fagocitosis y establecer las bases de la respuesta celular.

Posteriormente, en 1884, Roux y Yersin demostraron que la acción patógena del bacilo diftérico es debida a la producción de una potente exotoxina y, en 1890, Behring y Kitasato obtuvieron la toxina tetánica y demostraron que el suero de los animales inoculados presentaba propiedades antitóxicas y era capaz de neutralizar la toxina *in vitro* y de proteger a los animales frente a la inoculación experimental. Estas investigaciones dieron paso al descubrimiento de la seroterapia y permitieron demostrar que, además de la inmunidad celular, existían mecanismos de inmunidad humoral de gran importancia en la protección frente a las enfermedades infecciosas. Fueron seguidas por el conocimiento del complemento por Buchner y el de los anticuerpos antibacterianos por Bordet y su escuela, que constituyeron la base de los métodos de serodiagnóstico.

En 1891, Ehrlich amplió considerablemente el campo de la inmunología al demostrar que gran número de sustancias, tóxicas o no, eran capaces de inducir la formación de anticuerpos. Desarrolló su célebre teoría de las «cadenas laterales», según la cual la reacción antígeno-anticuerpo, base de la inmunidad humoral, sería debida a una unión entre grupos químicos específicos, localizados en la superficie del antígeno y del anticuerpo, que presentarían estructuras complementarias.

A comienzos del siglo XX se empieza a considerar la respuesta inmunitaria como un proceso más general y amplio que la mera respuesta a la infección, por una parte, como consecuencia de la gran obra de Landsteiner, que descubre los grupos sanguíneos ABO e introduce el empleo de los antígenos conjugados para el análisis de la respuesta humoral, y, por otra, el descubrimiento de la anafilaxia por Richet y Portier (1902), que demuestran que la respuesta inmune puede abocar a la producción de lesiones tisulares y, junto con la descripción por Arthus (1903) del fenómeno que lleva su nombre y los estudios de Von Pirquet (1906) sobre la alergia, contribuyeron a proporcionar una nueva panorámica a la inmunología.

Quimioterápicos

Aunque el empleo de sustancias químicas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas se inició hace ya siglos por métodos empíricos, el verdadero fundador de la quimioterapia fue Ehrlich, que, apoyándose en su teoría de las «cadenas laterales» y en la acción de los colorantes, consideró que cualquier sustancia tóxica, para poder ejercer su acción, debía fijarse químicamente sobre la materia viva, ya fueran células del organismo o agentes patógenos. Esto le impulsó a buscar sustancias que presentaran capacidad de fijación selectiva, es decir, que siendo capaces de fijarse sobre los patógenos no tuvieran apetencia por las células del huésped. Después de gran número de ensayos llegó el descubrimiento de un arsenical, el Salvarsan, que fue utilizado durante mucho tiempo en el tratamiento de la sífilis. Este descubrimiento fue seguido por el de otros quimioterápicos, arsenicales orgánicos, antimoniales y antipalúdicos de síntesis, hasta que, en 1935, Domagk, estudiando los colorantes dotados de acción antibacteriana, encontró el Prontosil, cuyo núcleo activo, la p-aminobencenosulfonamida, por sustitución de diversos radicales ha dado lugar al aislamiento de gran número de compuestos, que se conocen con el nombre genérico de *sulfamidas*.

Por otra parte, en 1929, Fleming realizó la observación de un fenómeno de antagonismo bacteriano entre un hongo (*Penicillium notatum*) y los estafilococos: al contaminar espontáneamente las esporas del hongo, vehiculadas por el aire, una placa de un cultivo de estafilococos habían inhibido el desarrollo de estos organismos. Esta observación fundamental determinó que, en 1940, Florey y Chain aislaran el primer antibiótico conocido, la penicilina, y que años más tarde por el estudio de un actinomiceto del suelo (*Streptomyces griseus*) se llegara al descubrimiento de la estreptomicina por Waksmann. En las décadas siguientes, la investigación exhaustiva de microorganismos del suelo ha permitido el aislamiento de varios centenares de antibióticos, de los cuales alrededor de cien se han mostrado de utilidad clínica.

Descubrimiento de los virus

Las enfermedades infecciosas producidas por virus se conocían desde hacía mucho tiempo, pero la naturaleza del agente causal no fue determinada hasta el siglo XX. A fines del siglo XIX Mayer (1876), estudiando una enfermedad de las plantas, el mosaico de las hojas del tabaco, reconoció su naturaleza infecciosa, aunque no consiguió observar ni aislar microorganismo alguno a partir de las plantas enfermas. Sin embargo, quince años más tarde, Ivanowsky demostró que el agente causal era capaz de atravesar los filtros que normalmente retienen el paso de las bacterias y, por tanto, era de tamaño muy pequeño; por ello lo denominó *virus filtrable*. Este hecho fue comprobado más tarde por Beijerinck (1896), quien, al observar que el filtrado era infeccioso aun después de precipitación por alcohol y de atravesar un gel de agar, supuso que el agente causal era una sustancia viva y fluida de naturaleza diferente a las bacterias, que denominó *contagium vivum fluidum* o *virus*. Posteriormente, Loeffler y Frosch (1898), trabajando en una enfermedad de los bóvidos, la fiebre aftosa, comprobaron la filtrabilidad del agente y demostraron que tras pases seriados en animales de experimentación se conservaba su poder infeccioso y llegaron a la conclusión de que no se trataba de una sustancia fluida, sino particulada de muy pequeño tamaño, capaz de reproducirse en los animales inoculados y a la que, en oposición el *contagium fluidum* de Beijerinck, denominaron *contagio corpuscular*.

En consecuencia, en el primer cuarto del siglo XX, los investigadores se dirigieron al estudio de la filtrabilidad de

productos patológicos procedentes de enfermedades de etiología no conocida y se llegó a la demostración de que los agentes causales de enfermedades tan diversas como la fiebre amarilla, la rabia, el sarcoma de Rous de las gallinas, la mixomatosis del conejo, la lisis infecciosa de las bacterias y diversas enfermedades de las plantas se podían clasificar en el grupo de los virus. Diversos investigadores se dedicaron al estudio de su acción patógena, epidemiología y composición química. Mediante nuevas técnicas, como la ultrafiltración y ultracentrifugación, se pudo concentrar y purificar los virus y abordar el estudio de su composición química, en especial el del virus del mosaico del tabaco, lo cual culminó cuando Stanley, en 1933, consiguió obtener por primera vez la cristalización del virus. Dicho descubrimiento produjo un tremendo impacto en medicina y biología e impulsó de forma extraordinaria los trabajos sobre los virus, de manera que, a partir de 1940, el empleo del microscopio electrónico, el estudio del sistema fago-bacteria como modelo de interacción virus-célula huésped (Delbruck, Luria, Hershey) y diversas investigaciones en bioquímica y genética promovieron decisivamente el desarrollo de la virología.

Epoca moderna

A partir de Pasteur, la mayor parte de microbiólogos se sintieron interesados fundamentalmente por el estudio de la relación de los microbios con la enfermedad, la agricultura y la industria, que presentaban problemas demandantes de solución inmediata, lo que motivó el desarrollo de una bacteriología aplicada sin que contara con la base de un sólido conocimiento de sus fundamentos.

Pero después de la II Guerra Mundial, merced a la aplicación de nuevas técnicas de observación y métodos de análisis biofísico, bioquímico e inmunológico, se realizaron grandes progresos en el campo de la microbiología general. Se llegó a un conocimiento más profundo de la estructura de la célula bacteriana y se pudo demostrar la existencia de nuevos elementos externos, como los *pili* comunes y sexuales (Duguid y Guillies, 1957), de gran importancia en los fenómenos de adherencia y de transferencia genética. En 1952, Salton fue el primero en aislar de la pared celular un nuevo aminoazúcar, el ácido N-acetilmurámico, compuesto específico de las bacterias, de gran interés en el conocimiento del mecanismo de acción de algunos antibióticos. Más tarde se demostró en el citoplasma la presencia de ribosomas de 70S y que el núcleo bacteriano estaba formado por una molécula de ADN desprovista de membrana (Cairns, 1963).

Paralelamente, las investigaciones sobre fisiología permitieron confirmar los estudios de Kluyver (1926), según los cuales el metabolismo de las bacterias es muy parecido al de los animales y plantas, y se estableció el concepto de unidad bioquímica y biológica en la escala molecular. Los organismos difieren según los sustratos específicos que requieren y el grado en que utilizan los sistemas oxidativos o fermentativos, pero los mecanismos básicos por los que obtienen energía son pocos y comunes a todos ellos.

En el campo de la genética, la sustitución de la mosca *Drosophila*, el ratón o el maíz por hongos *(Neurospora)*, levaduras *(Sacharomyces)* y, posteriormente, bacterias *(E. coli)*, como consecuencia de su estructura y metabolismo mucho más sencillos y su gran velocidad de multiplicación, permitió efectuar la observación sobre poblaciones numerosas y facilitó grandes avances.

El descubrimiento de la estructura (Watson y Crick, 1953) y función del ADN portador del mensaje genético, y los trabajos de Avery, Lederberg y Tatum (1944-58), demostrativos de los diversos mecanismos de transferencia del material genético, han hecho que las bacterias se hayan utilizado como modelos para el estudio del metabolismo y de la genética en general y que de la fusión de la doctrina y métodos de la microbiología, genética y bioquímica haya surgido una nueva disciplina, la biología molecular.

El mejor conocimiento de las bacterias hizo que se emplearan para su clasificación criterios fisicoquímicos y surgieron las clasificaciones de Orla-Jensen (1909-21), de Castellani y Chalmers (1919) y de Kluyver y Van Niel (1936), que abrieron el camino a las clasificaciones actuales, como la de Bergey (1923-76), y al empleo de técnicas de análisis genético del ADN, como el porcentaje de bases (Falkow, Marmur y Mandell, 1963) o de hibridación química (Jones y Sneath, 1970), y recientemente la aplicación de los métodos clásicos de taxonomía numérica o adansoniana (Adanson, 1727-1806), que basados en el estudio de un gran número de caracteres que se consideran de igual jerarquía y determinando los grados de semejanza mediante computadores (Sneath, 1958; Cowan, 1959; Sokal y Sneath, 1963) han facilitado el cálculo y ordenación de los resultados.

En el campo de las enfermedades infecciosas se han producido cambios en la relación bacteria-huésped. Por lo que respecta a las bacterias, hay que señalar el descubrimiento del fenómeno de la resistencia múltiple a los antibióticos (Akaba, Ochiai y Watanabe, 1956), que se puede transferir en bloque a otras bacterias, por factores extracromosómicos o plasmídicos (plásmidos R), el estudio de los factores determinantes de la acción patógena y el aislamiento de nuevos patógenos *(Legionella, Campylobacter, Clostridium difficile)*. En relación con el huésped, el empleo indiscriminado y creciente de antibióticos y los grandes avances realizados en el tratamiento de las enfermedades agudas y crónicas, si bien han supuesto un gran adelanto facilitando la prolongación de la vida de los enfermos y disminuyendo las cifras de mortalidad, han comprometido sus mecanismos de defensa aumentando la susceptibilidad a las infecciones.

En el campo de la inmunología se llegó a un estudio detallado de la estructura de los anticuerpos (Porter y Edelman, 1959), gracias a los avances en bioquímica y al análisis de las proteínas monoclonales, así como a un mejor conocimiento de los mecanismos de la respuesta inmune, merced al estudio de las inmunodeficiencias (Bruton, 1952) y al descubrimiento del papel del timo (Miller y Good, 1961) y de la *bursa* de Fabricio en la diferenciación del tejido linfoide.

Desde 1944, con los trabajos de Burnet y Medawar, se profundiza en la tolerancia natural y experimental y se configura la doctrina de distinción entre lo propio y lo extraño *(self y non self)*, característica del sistema inmunitario, ya prevista por Ehrlich. En 1955, el propio Burnet y Jerne formulan la teoría de la selección clonal en la que se basa el actual concepto de la respuesta inmunitaria.

La inmunogenética se enfrenta al serio compromiso de explicar las múltiples características de la respuesta inmunitaria, como, por ejemplo, la diversidad de los anticuerpos y la regulación de la respuesta. Entre otros, los trabajos de Snell a partir de 1936, de Dausset desde 1954 y de Benacerraf posteriores a 1960, han permitido definir, en el ratón, el

hombre y otros animales, el sistema genético, complejo mayor de histocompatibilidad responsable de la regulación de la respuesta inmune, cuyo mecanismo genético empieza a desvelarse en los últimos años.

La obtención por Kohler y Milstein, a partir de 1975, de células híbridas (hibridomas), capaces de fabricar grandes cantidades de anticuerpos estrictamente específicos (anticuerpos monoclonales), representa una verdadera revolución tecnológica que abre vastas perspectivas a la investigación en todos los campos de la inmunología.

En virología, el descubrimiento de nuevas técnicas de observación electrónica, como el sombreado metálico (Williams y Wickoff, 1964), las secciones ultrafinas (Peace, Baker, Bretschneider, 1948) y, en especial, los métodos de tinción negativa (Hall, 1955; Brenner, Horne, Waterson y Wildy, 1959) y de difracción por rayos X, facilitó el conocimiento de la morfología y estructura de los virus y el descubrimiento de los cultivos celulares o de células aisladas (Enders, Weller y Robbins, 1949) al permitir el cultivo de diversos tipos de células, e hizo posible que en los diez años siguientes se aislaran gran número de virus.

En consecuencia, se obtuvieron suspensiones concentradas y purificadas de virus, que han constituido la base para los estudios sobre composición química, la obtención de buenos antígenos para el diagnóstico serológico de las virosis y de vacunas eficaces para su prevención. Los avances en este campo no se han interrumpido y cabe destacar como más importantes: la demostración de que el ácido nucleico vírico purificado podía ser infeccioso; la determinación de la estructura primaria del nucleocápside y una serie de experimentos *in vitro* que permitieron demostrar la replicación del ácido nucleico en presencia de precursores y enzimas, y la demostración de que el ARN del virus en presencia de ribosomas celulares podía sintetizar las proteínas del cápside y estas proteínas y el ácido nucleico se podían acoplar logrando la primera reconstitución *in vitro* de un virus, lo cual, junto con la demostración de virus satélites de otros virus y el descubrimiento de los viroides, pequeñas moléculas de ácido nucleico dotadas de poder infeccioso, constituye los avances más importantes.

Bosquejo histórico de parasitología

Como consecuencia de su mayor tamaño, los parásitos se descubrieron mucho antes que los microbios y hubo noticias de su existencia desde épocas muy remotas.

En el papiro de Ebers ya se hace referencia a diversos gusanos parásitos y, en 1920, Ruffer encontró huevos de *Schistosoma* en el riñón de momias del antiguo Egipto (XX dinastía). Posteriormente en diversos escritos se señala la presencia de helmintos (*Ascaris, Enterobius, Taenia* y *Filaria*) en Europa durante la dominación romana, en diversos países asiáticos (India, China) y en América durante la época precolombina.

Desde el siglo XII al XVII se consideró que los parásitos se generaban a partir de las secreciones y excreciones del hombre y de los animales. En esta época, la mayoría de investigadores se limitaron a describir los parásitos ya conocidos, con algunas nuevas aportaciones, como el descubrimiento de *Fasciola hepatica* (Brie, 1379) y *Dyphyllobothrium latum* (Dunas, 1592). Se tiene que llegar a la segunda mitad del siglo XVII, con el perfeccionamiento del microscopio de Leeuwenhoek, para que se impulsaran los estudios morfológicos. Gracias a las observaciones del poeta y físico Francesco Redi se pudo demostrar que los gusanos que se producían en los procesos de putrefacción de la carne no eran más que larvas de mosca (generadas a partir de huevos que habían sido depositados previamente) y se descartó la teoría de la generación espontánea. Por ello, Redi ha sido considerado el verdadero fundador de la parasitología.

En el siglo XVIII, Rudolphi, a raíz de la aparición del *Sistema Naturae* de Linneo, establece una clasificación de los gusanos en cinco clases, *Nematoidea, Acantocephala, Nematoda, Cestoda* y *Cystica*, y a fines de este siglo y durante el XIX se suceden los descubrimientos, tanto por lo que se refiere al hallazgo de nuevos parásitos como al conocimiento de insectos vectores o del ciclo evolutivo. Se mencionan los más importantes en parasitología médica.

En 1835, Owen descubrió las larvas de *Trichinella spiralis* en el tejido muscular de los enfermos y, en 1845, Dujardin, al demostrar que los cisticercos son en realidad una fase larvaria de las tenias, abrió el camino al estudio del ciclo evolutivo de los parásitos. Más tarde se suceden los hallazgos: en 1851, Bilharz descubre *Schistosoma haematobium* e *Himenolepis nana*, y Kuchenmeister diferencia *Taenia solium* de *Taenia saginata;* Von Siebold (1853) obtiene *Echinococcus granulosus* a partir de perros que habían ingerido quistes hidatídicos; en 1857, Lambl encuentra *Giardia intestinalis;* en 1875, Lösch halla *Entamoeba hystolitica;* en 1880, Laveran descubre los parásitos del paludismo, y quince años más tarde Ronald Ross demuestra su transmisión por mosquitos del género *Anopheles*. En 1900, Reed, Carroll, Agramonte y Lazear lograron demostrar que el mosquito *Aedes aegypti* era el vector de la fiebre amarilla, como ya había sugerido el cubano Carlos Finlay unos años antes.

Los estudios sobre el vector, que en las tripanosomiasis tuvieron su origen en las investigaciones de Bruce, al descubrir que las moscas picadoras del género *Glossina* eran las transmisoras de la tripanosomiasis animal, Nagana, tuvieron su continuación, en 1903, cuando Bruce y Nabarro demostraron que *Glossina palpalis* era el vector de la enfermedad del sueño producida por *Trypanosoma gambiense*, y, en 1909, cuando Chagas descubrió que un redúvido, *Triatoma megista*, transmitía la tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas).

Los estudios sobre el ciclo evolutivo, iniciados a mediados del siglo XIX, tuvieron su culminación cuando, en 1881-82, Thomas y Leuckart describieron por primera vez el ciclo completo de un parásito, *Fasciola hepatica*. Posteriormente se suceden los descubrimientos en el curso del siglo XX: en 1911, Kleine y Taute describen el ciclo vital de *Trypanosoma gambiense;* en 1913, Miyairi y Suzuki, el de *Schistosoma japonicum;* en 1918, Rosen y Von Janicki, el ciclo de *Dibothriocephalus latus*, que requiere dos huéspedes intermediarios, y más recientemente el ciclo de *Toxoplasma gondii* (Hutchinson, 1965; Hutchinson, Dunachie, Siim y Work, 1970).

Durante la II Guerra Mundial, los movimientos de tropas en las áreas endémicas facilitaron la difusión de los parásitos a la mayoría de países y crearon situaciones críticas, que impulsaron la investigación en el campo de la parasitología fundamental y de la aplicada, así como en la profilaxis de las enfermedades parasitarias (insecticidas de contacto). Los estudios sobre fisiología y bioquímica parasitaria condujeron al cultivo de diversos parásitos, y a partir de Talia-

Tabla 1-1. Premios Nobel de medicina y fisiología concedidos por investigaciones relacionadas con microbiología e inmunología

Año	Galardonados	Por sus trabajos sobre
1901	F. A. von Behring (Alemania)	Antitoxina diftérica
1902	R. Ross (Gran Bretaña)	Paludismo
1905	R. Koch (Alemania)	Tuberculosis
1907	C. L. A. Laveran (Francia)	*Plasmodium*
1908	P. Ehrlich (Alemania)	Anticuerpos. Quimioterapia
	E. Mevnikov (Rusia)	Fagocitosis
1913	C. R. Richet (Francia)	Anafilaxia
1919	J. Bordet (Bélgica)	El complemento y los anticuerpos
1928	C. Nicolle (Francia)	Tifus exantemático
1930	K. Landsteiner (Austria)	Grupos sanguíneos ABO
1939	G. Domagk (Alemania)	Sulfamidas
1945	A. Fleming (Gran Bretaña) H. W. Florey (Gran Bretaña) E. B. Chain (Gran Bretaña)	Penicilina
1946	P. H. Muller (EE.UU.)	DDT
1951	M. Theiler (Unión Sudafricana)	Fiebre amarilla
1952	S. A. Waksman (EE.UU.)	Estreptomicina
1954	J. F. Enders (EE.UU.) T. H. Weller (EE.UU.) F. C. Robbins (EE.UU.)	Poliovirus
1957	D. Bovet (Suiza)	Antihistamínicos
1958	G. W. Beadle (EE.UU.) E. L. Tatum (EE.UU.) J. Lederberg (EE.UU.)	Comportamiento biológico de los genes
1959	S. Ochoa (España) A. Kornberg (EE.UU.)	Síntesis del ADN y ARN
1960	F. M. Burnet (Australia) P. B. Medawar (Gran Bretaña)	Tolerancia inmunológica
1962	F. C. Crick (Gran Bretaña) M. Wilkins (Gran Bretaña) J. D. Watson (Gran Bretaña)	Estructura del ADN
1965	F. Jacob (Francia) A. M. Lwoff (Francia) J. L. Monod (Francia)	Síntesis de proteínas y virus
1966	C. B. Huggins (EE.UU.) F. P. Rous (EE.UU.)	Virus oncógenos
1969	M. Delbruck (EE.UU.) A. Hershey (EE.UU.) S. E. Luria (EE.UU.)	Genética vírica
1972	R. R. Porter (Gran Bretaña) G. M. Edelman (EE.UU.)	Estructura de los anticuerpos
1975	R. Dulbecco (EE.UU.) H. M. Temin (EE.UU.) D. Baltimore (EE.UU.)	Oncogenia vírica. Transcriptasas inversas
1976	B. S. Blumberg (EE.UU.)	Antígenos del virus de la hepatitis B
	D. C. Gajdusek (EE.UU.)	Virus lentos (Kuru)
1978	D. Nathans (EE.UU.) H. Smith (EE.UU.) W. Arber (Suiza)	Enzimas de restricción de origen bacteriano
1980	G. Snell (EE.UU.) B. Benacerraf (EE.UU.) J. Dausset (Francia)	Complejo mayor de histocompatibilidad y regulación genética de la respuesta inmune
1983	B. McClintock	Movilidad de los genes en el seno del genoma
1984	N. Jerne G. Kohler C. Milstein	Aportaciones teóricas a la inmunología, anticuerpos monoclonales por hibridomas

ferro los de inmunología parasitaria han tenido una gran repercusión en medicina, pues han contribuido al diagnóstico serológico de las parasitosis y a comprender mejor los fenómenos de inmunidad y, además, han abierto una línea para la investigación de vacunas eficaces en la prevención de las enfermedades más importantes (tripanosomiasis, paludismo, esquistosomiasis).

Como muestra de la importancia de las investigaciones realizadas en microbiología, inmunología y parasitología, en el contexto de la medicina científica, en la tabla 1-1 se rela-

cionan los premios Nobel concedidos por trabajos relacionados con estas materias.

CONCEPTO Y CONTENIDO

Concepto de microbio y parásito

Desde antiguo los microbios se han considerado como organismos de tamaño microscópico. Según esta definición, el concepto de microbio dependería exclusivamente de su tamaño, de manera que los organismos de tamaño inferior a 1 mm, que el hombre no ve con detalle y necesita del microscopio para efectuar su observación, serían incluidos entre los microbios, mientras que los que se observan a simple vista no lo serían. En este sentido comprenderían los organismos unicelulares, como las bacterias y protozoos, una parte de las algas y hongos, e incluso los organismos de tamaño ultramicroscópico, como los virus.

Sin embargo, es evidente que el tamaño no se puede considerar como un criterio válido para definir los microbios, sino que deben tenerse en cuenta caracteres más importantes y fundamentales. En general, los microbios son organismos dotados de individualidad, que presentan, a diferencia de los seres superiores, una organización biológica elemental y en su mayoría pueden considerarse unicelulares, aunque en algunos casos se trate de organismos cenocíticos (compuestos por masas multinucleadas a consecuencia de que las células no presentan membranas completas que separen unos núcleos de otros) o incluso multicelulares.

Aun cuando en su gran mayoría los microbios son de tamaño microscópico, algunos organismos con las características anteriores es posible observarlos a simple vista, pese a su pequeño tamaño. En este sentido, los microbios se pueden considerar como organismos dotados de individualidad, con una organización biológica elemental y por lo general de tamaño microscópico.

El concepto de parásito es fundamentalmente ecológico, por cuanto supone la asociación con otro ser vivo. Se puede definir como «todo ser vivo que habita en la superficie o en el interior de otro, denominado hospedador o huésped, del que obtiene las sustancias nutritivas y el medio ambiente necesario para su desarrollo y multiplicación, viviendo, por tanto, a sus expensas».

Aunque el parasitismo es un fenómeno general de adaptación, mediante el cual ciertas especies, eucariotas y procariotas, resuelven su existencia en la biosfera, la parasitología médica se circunscribe al estudio de los parásitos del reino animal cuando el hombre actúa como huésped (helmintos y artrópodos) y de los protozoos, que, aunque se clasifican entre los microbios, tradicionalmente se estudian con los parásitos.

Clasificación y contenido

Cuando se inició el estudio de los microbios y parásitos, se trató de incluirlos en alguno de los grandes reinos de la naturaleza (tabla 1-2), y aunque los parásitos pluricelulares se encuadraron claramente en el reino animal, la clasificación de los microbios fue motivo de controversia, pues, mientras que algunos microorganismos, como las algas y hongos, presentaban caracteres semejantes a los vegetales y los protozoos los mostraban similares a los animales, existían otros, como las bacterias, que eran difíciles de clasificar, pues poseían caracteres de ambos. Sin embargo, pronto se observó que existía un carácter que los definía y a su vez los diferenciaba de los animales y de los vegetales, y era su organización biológica elemental, pues la de los animales y vegetales era mucho más compleja.

Tabla 1-2. Clasificación de los seres vivos en reinos

2	3	4	5
Plantae	*Plantae*	*Plantae*	*Plantae*
Animalia	*Animalia*	*Animalia*	*Animalia*
	Protista	*Protista*	*Fungi*
		Procaryotae	*Protista*
			Procaryotae

Los animales y vegetales son seres pluricelulares constituidos por células diferenciadas que se organizan formando tejidos con funciones especializadas que constituyen los órganos, y no puede considerarse cada célula como una unidad independiente. Los microbios, por el contrario, en su gran mayoría son seres unicelulares, pero también pueden ser multicelulares, cuando están compuestos por células indiferenciadas, que al asociarse no forman tejidos con funciones especializadas, sino que cada una de ellas constituye un organismo completo e independiente dotado de capacidad de reproducción. Por ello, en 1886, el zoólogo alemán Haeckel propuso como solución la creación de un tercer reino, el reino *Protista*, que incluiría los seres vivos dotados de una organización biológica elemental (tabla 1-2).

Más tarde, con el empleo del microscopio electrónico se pudo estudiar la estructura de la célula y se llegó a la conclusión de que en la naturaleza existían dos tipos de estructura celular: la célula eucariota, de estructura compleja y provista de un verdadero núcleo, y la célula procariota, de estructura más sencilla y núcleo elemental. Los animales y vegetales presentarían la estructura de la célula eucariota y los protistas, caracterizados por su organización biológica elemental, se podrían diferenciar a su vez por la estructura celular, pues, mientras que las algas, hongos y protozoos presentarían la estructura de la célula eucariota, las bacterias y cianobacterias adoptarían la estructura más simple de la célula procariota. En consecuencia, los protistas se dividieron en dos grandes grupos, protistas superiores o eucariotas y protistas inferiores o procariotas, clasificación que se ha mantenido durante mucho tiempo.

Desde un punto de vista general, si para la clasificación de los seres vivos, en lugar de los sistemas de organización biológica y agrupación celular, se considera como carácter más básico y fundamental la estructura u organización de la célula, es evidente que todos los seres vivos se podrían clasificar en dos grandes reinos: el reino eucariota, que incluiría los animales, vegetales y protistas eucariotas, y el reino procariota, que estaría constituido por los protistas procariotas.

Sin embargo, al tener en cuenta que dentro de los procariotas sólo se encuentran las bacterias y cianobacterias y que todos los demás seres vivos presentan la estructura de la célula eucariota, en 1968, se decidió la creación de un cuarto reino, el reino *Procaryotae* que comprende los microorganismos de estructura elemental, y se mantiene por el momento la clasificación tradicional de los eucariotas en

Tabla 1-3. Microbios y parásitos de interés médico

Estructura	Reino	Organismos
Celular	Vegetal	–
	Animal	Helmintos y artrópodos
	Protista	Protozoos y hongos
	Procariota	Bacterias
Subcelular	–	Virus

reino animal y reino vegetal, con el reino protista además, que queda así limitado a los microorganismos eucariotas. Incluso se ha considerado que, dentro de los protistas, los hongos presentan diferencias lo suficientemente significativas para justificar la creación de un quinto reino.

Quedan fuera de esta clasificación los virus, organismos de tamaño ultramicroscópico y estructura subcelular, que forman un grupo aparte.

En consecuencia, la microbiología y parasitología médica (tabla 1-3) se ocupan en el estudio de los microorganismos y parásitos de estructura celular, que se encuentran en los reinos procariota (bacterias), protista (hongos y protozoos) y animal (helmintos y artrópodos), incluidos, además, los de estructura subcelular (virus).

BIBLIOGRAFIA

Brock, T. D.: Milestones in Microbiology, Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1961. Reprinted. Am. Soc. Microbiol., 1975.

Bulloch, W.: The History of Bacteriology. Oxford University Press, New York, 1960.

Dagognet, F.: Méthodes et doctrine dans l'oeuvre de Pasteur. Press. Univ., Paris, 1967.

Delaunay, A.: Microbiología desde 1914 a 1960. En Laín Entralgo, P. (dir.): Historia universal de la medicina. Salvat Editores, Barcelona, 1975.

Laín Entralgo, P.: Inmunoterapia e inmunología. En Laín Entralgo, P. (dir.): Historia universal de la medicina, 6, 192. Salvat Editores, Barcelona, 1975.

Pumarola, A.: Microbiología desde 1960 hasta la actualidad. En Laín Entralgo, P. (dir.): Historia universal de la medicina. Salvat Editores, Barcelona, 1975.

Theodorides, J.: La microbiología médica. En Laín Entralgo, P. (dir.): Historia universal de la medicina. Salvat Editores, Barcelona, 1975.

Capítulo 2

El mundo microbiano

Agustín Pumarola

BIBLIOTECA PÚBLICA - COMUNIDAD DE MADRID - RETIRO

EUCARIOTAS, PROCARIOTAS Y VIRUS

CELULAS EUCARIOTA Y PROCARIOTA

La aplicación del microscopio electrónico al estudio de las células ha permitido demostrar que, si bien la célula representa una unidad morfológica y funcional, en cuanto a estructura se pueden distinguir dos tipos fundamentales: la célula eucariota y la célula procariota (tabla 2-1).

Célula eucariota

Es la célula más altamente diferenciada (fig. 2-1). Está limitada por la membrana citoplásmica y se caracteriza por la existencia de un verdadero núcleo, la presencia de diversas estructuras citoplásmicas organizadas y un citoesqueleto compuesto por microtúbulos y microfilamentos.

Membrana citoplásmica

Es una membrana fina (8 nm) que presenta una estructura básica constituida por proteínas y fosfolípidos que contienen esteroles. Actúa como barrera osmótica selectiva regulando el intercambio de sustancias nutritivas con el exterior. En las plantas superiores, algas y hongos, puede existir, además, una pared o cubierta celular, compuesta por polisacáridos diversos (celulosa, hemicelulosa, mananos, pectina o quitina).

Citoplasma

Se caracteriza por contener un gran número de estructuras especializadas que presentan funciones diversas y está atravesado por sistemas de membranas que le dan un aspecto esponjoso. Se encuentran:

Retículo endoplásmico. Está constituido por una red de tubos o canalículos aplanados, formados por membranas, que atraviesan la célula en todas direcciones. Está en comunicación con la membrana citoplásmica y el exterior, y con la hoja externa de la membrana nuclear y el espacio perinuclear. En gran parte se encuentran ribosomas adosados a su superficie que le comunican un aspecto granular. Presenta funciones de síntesis, almacenamiento y transporte.

Aparato de Golgi. Está constituido por un conjunto de membranas en forma de sacos aplanados, sin la presencia de ribosomas, y se encuentra situado en una zona yuxtanuclear del citoplasma. Tiene la función de preparar, almacenar y empaquetar los productos de excreción de la célula, que más tarde son eliminados al exterior (exocitosis) mediante la formación de vesículas de Golgi.

Mitocondrias. Son estructuras esferoidales o alargadas, rodeadas de una doble membrana, cuya hoja interna forma invaginaciones laminares (crestas mitocondriales), donde se encuentran filamentos de ADN y partículas de ARN de 70S, y su hoja externa, ribosomas. Representan el centro respiratorio y energético de la célula, pues contienen las enzimas respiratorias y sistemas enzimáticos que regulan las reacciones de óxido-reducción y de fosforilación oxidativa, que intervienen en el almacenamiento de la energía en forma de ATP, necesario para los procesos de biosíntesis.

Cloroplastos. Estructuras de forma lenticular (3-10 μm) o filamentosa, que se encuentran en las células eucariotas fotosintéticas. Contienen el aparato fotosintético, que está constituido por pigmentos de captación de energía radiante, el centro de reacción con clorofila y una cadena de transporte de electrones a través de la cual se genera ATP.

Lisosomas. Son vesículas ovoides de 0,2-0,5 μm de diámetro, formadas en el aparato de Golgi, que contienen numerosas enzimas hidrolíticas capaces de descomponer una gran variedad de macromoléculas, de gran importancia en los procesos de fagocitosis y de digestión intracelular.

Ribosomas. Partículas citoplásmicas de 15 nm y 80S, constituidas por ARN asociado con diversas proteínas, donde se efectúa la traducción del mensaje genético contenido en el ARN mensajero y la síntesis de las proteínas. Están formados por dos subunidades de 60S y 40S. Pueden encontrarse libres en el citoplasma o asociados con las membranas del retículo endoplásmico (retículo endoplásmico granular). También se encuentran partículas de ARN de 70S, localizadas en las mitocondrias.

Tabla 2-1. Diferencias de estructura y actividad entre las células eucariotas y procariotas

	Eucariotas	Procariotas
Membranas		
Pared celular	No (salvo plantas, algas y hongos)	Sí (salvo micoplasmas)
Peptidoglicano	No	Sí
Membrana citoplásmica	Sí	Sí
Esteroles	Sí	No (salvo micoplasmas)
Citoplasma		
Retículo endoplásmico	Sí	No
Aparato de Golgi	Sí	No
Lisosomas	Sí	No
Mitocondrias	Sí	No
Cloroplastos	Sí	No
Ribosomas	80S y 70S	70S
Microtúbulos	Sí	No
Núcleo		
Membrana nuclear	Sí	No
ADN asociado a histonas	Si	No
Cromosomas	Varios	Uno
Nucléolo	Sí	No
Información genética	Cromosomas, mitocondrias y cloroplastos	Cromosomas y plásmidos
División por mitosis	Sí	No
Mecanismos de recombinación genética	Total, con fusión de los gametos	Parcial, en una sola dirección
Actividades		
Ciclosis	Sí	No
Fagocitosis	Sí	No
Pinocitosis	Sí	No
Mov. ameboide	Sí	No
Sensibilidad a		
β-lactaminas	No	Sí
Aminoglicósidos	No	Sí
Macrólidos	No	Sí
Tetraciclinas	No	Sí
Nistatina	Sí	No
Anfotericina B	Sí	No
Cicloheximida	Sí	No

El citoplasma, como consecuencia de su constitución granulosa y metabolismo activo, presenta un movimiento constante de rotación en un mismo sentido; son las corrientes citoplásmicas o de ciclosis, que se encuentran en relación con el movimiento y los mecanismos de nutrición de la célula.

Núcleo

El núcleo está separado del citoplasma por la membrana nuclear, formada por una doble hoja que presenta numerosos poros de 40 nm. Contiene los cromosomas, constituidos por la asociación de filamentos de ADN con histonas y proteínas, que sólo se hacen visibles al microscopio ordinario en el momento de la división.

Cada especie presenta un número constante de cromosomas y la división se efectúa por un mecanismo complejo, denominado mitosis, en virtud del cual cada cromosoma se divide longitudinalmente en dos mitades iguales. Para ello los cromosomas se sitúan en el plano ecuatorial, y se forma un aparato mitótico contráctil, constituido por un huso de fibras (huso acromático), que en cada polo convergen en una formación o centriolo, encargado de guiar los cromosomas hacia los polos del huso, de manera que cada una de las células hijas reciba una misma dotación de cromosomas.

En la reproducción sexuada, durante el acto de la fecundación se produce la fusión de los gametos masculino y femenino, y se forma el huevo o zigote, que tendrá, por tanto, una dotación diploide de cromosomas. Más tarde ocurre un proceso de reducción cromosómica o de meiosis, que se efectúa mediante el apareamiento de los cromosomas de cada progenitor, que, después de un proceso de recombinación, van seguidos de una doble división, con lo que se recupera la dotación haploide. Los organismos con reproducción sexuada se caracterizan por la alternancia de las dos formas diploides y haploides. La meiosis puede tener lugar en la formación de los gametos inmediatamente después de la del zigote o en una etapa intermedia. Esto constituye una diferencia importante entre los ciclos biológicos de diferentes organismos que se reproducen sexual y asexualmente o de forma alternante, entre los que se encuentran algunos parásitos.

La información genética, en su mayoría, está contenida en el ADN cromosómico, pero existen, además, otros orgánulos portadores de genes (genóforos), como las mitocondrias y cloroplastos, que contienen parte de la información

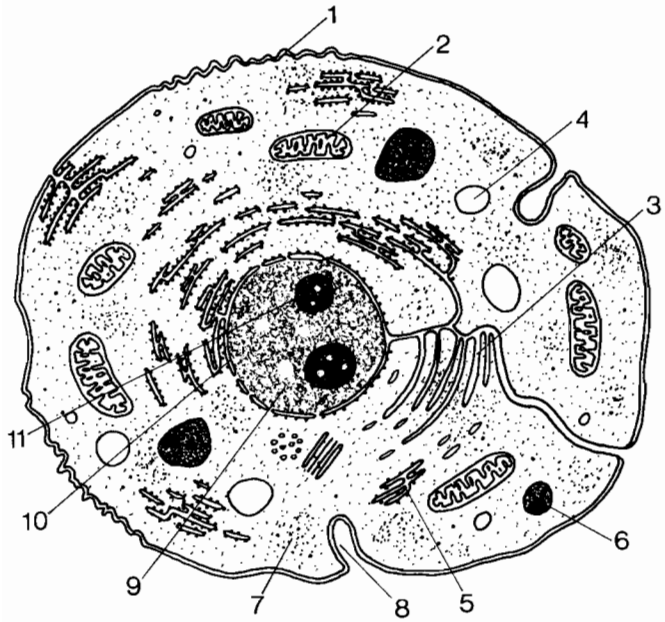


Fig. 2-1. Estructura de la célula eucariota: 1) membrana citoplásmica, 2) mitocondrias, 3) aparato de Golgi, 4) vacuolas, 5) retículo endoplásmico, 6) lisosomas, 7) ribosomas, 8) vesícula de pinocitosis, 9) núcleo, 10) membrana nuclear y 11) nucléolo.

genética y de los mecanismos de transcripción y traducción, y pueden considerarse como unidades semiautónomas capaces de sintetizar algunos componentes estructurales de la célula.

Microtúbulos y microfilamentos

En la célula se encuentran, además, microtúbulos; son cilindros muy finos (20-30 nm), constituidos por subunidades proteicas que contribuyen a mantener la forma de la célula y la función de la membrana citoplásmica e intervienen en la formación del huso mitótico, así como de los cilios y flagelos. También existen microfilamentos compuestos por actina y miosina, que se disponen agrupados e intervienen en el movimiento ameboide.

Motilidad y nutrición

Las células eucariotas, debido a la finura y plasticidad de su membrana y a las corrientes de ciclosis, son capaces de desplazarse sobre un soporte rígido mediante la emisión de pseudópodos, que fijándose a distancia permiten desplazar el cuerpo de la célula. Son los responsables del movimiento ameboide, típico de las amebas y fagocitos, y de los fenómenos de incorporación de diversas sustancias (endocitosis), ya sólidas (fagocitosis) o líquidas (pinocitosis), mediante la formación de vacuolas rodeadas de membrana, que van seguidas de los procesos de digestión intracelular o de la formación de endosimbiontes. El movimiento también puede ser debido a la existencia de un órgano locomotor constituido por cilios, apéndices cortos y numerosos, o flagelos, de número escaso y mayor longitud. Están rodeados por la membrana citoplásmica y constituidos por 20 microtúbulos, de los cuales 9 pares se encuentran en la periferia y 1 par, en posición central, y tienen su origen en un corpúsculo basal o blefaroplasto, situado en el citoplasma, cerca de la superficie.

Célula procariota

Por el contrario, la célula procariota presenta una estructura mucho más sencilla (fig. 2-2).

Membranas

La membrana citoplásmica tiene una estructura y composición semejante, pero no contiene esteroles. Presenta unos repliegues de forma sacular o en laminillas concéntricas (mesosomas), que intervienen en actividades secretoras y en los procesos de división. Sin embargo, la membrana es el lugar de actuación de diversas enzimas respiratorias, que desempeñan una función esencial en la generación de ATP semejante a las mitocondrias de las células superiores y, en algunos casos, a los cloroplastos.

Pero, además, por fuera de la membrana citoplásmica, existe una segunda membrana o pared celular, gruesa y rígida (a excepción de los micoplasmas), que es el soporte de la forma de las bacterias, evita su lisis osmótica y las protege de la acción de los agentes exteriores. Se caracteriza por la presencia de un polímero estructural específico, el mucopéptido, peptidoglicano o mureína, que permite diferenciar las bacterias de los organismos eucariotas que presentan otro tipo de pared celular.

Citoplasma

No contiene sistemas membranosos ni estructuras especializadas, con algunas excepciones. Presenta un aspecto

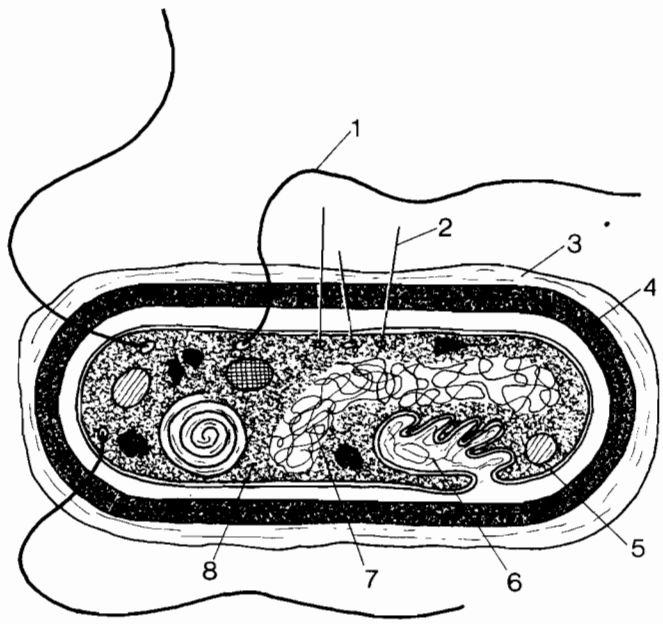


Fig. 2-2. Estructura de la célula procariota: 1) flagelos, 2) *pili*, 3) cápsula, 4) pared celular, 5) membrana citoplásmica, 6) mesosoma, 7) núcleo y 8) ribosomas.

granuloso, y pueden distinguirse dos tipos de granulaciones: *a)* granulaciones mayores o microscópicas, que en su mayoría contienen sustancias de reserva, y *b)* un gran número de granulaciones submicroscópicas libres o ribosomas, de menor tamaño que en la célula eucariota 70S (50S y 30S), pero cuya función es idéntica.

Núcleo

El núcleo de la célula procariota no presenta membrana nuclear, pero se encuentra separado del citoplasma por diferencias de estructura. Está constituido por un filamento de ADN, en espiral doble, no asociado a proteínas, aproximadamente de 1 mm de longitud, que se encuentra plegado en una zona del citoplasma, y se observa como una madeja de filamentos. Es el cromosoma o ADN cromosómico portador de la información genética y de la especificidad. Pero, además, algunas bacterias pueden contener en su citoplasma pequeñas moléculas circulares de ADN bicatenario enrolladas, denominadas plásmidos, que representan alrededor del 2 % del cromosoma y contienen la información genética necesaria para la síntesis de sustancias que no son indispensables para la bacteria; es el ADN extracromosómico o plasmídico.

Las células procariotas se dividen por mecanismo sencillo de bipartición, que se inicia por la replicación semiconservadora del cromosoma, seguida de la formación del tabique intercelular y separación de las células hijas que contienen así una copia completa del genoma.

Pueden ocurrir fenómenos de recombinación genética que no suponen fusión nuclear, sino procesos de transferencia de una parte del material genético en una sola dirección (de una célula dadora a una receptora), y dan lugar a células parcialmente diploides.

Motilidad

Debido a la presencia de la pared celular, los procariotas no presentan fenómenos de fagocitosis, pinocitosis ni movimiento ameboide. La motilidad es debida generalmente a la presencia de flagelos, que tienen una estructura diferente a los de las células eucariotas y cuyo número y localización varían en las diferentes especies. Son apéndices largos y ondulados, constituidos por subunidades proteicas, que se disponen en forma helicoidal alrededor de un centro hueco. Las bacterias pueden poseer, además, filamentos más cortos y numerosos, denominados *pili* o fimbrias, que intervienen en los fenómenos de adherencia y de transferencia genética. Hay otras formas de movimiento en las bacterias, como en las espiroquetas y cianobacterias, que tienen un mecanismo diferente. En otros casos no hay orgánulos cinéticos diferenciados.

GRANDES GRUPOS DE ORGANISMOS

Los organismos de interés en microbiología y parasitología se encuentran entre los eucariotas, procariotas y virus (tabla 2-2).

Eucariotas

Hay que distinguir aquellos que presentan una organización biológica elemental y que en general son unicelulares, como los protistas, de los organismos pluricelulares con una organización más compleja y diferenciada, como los parásitos del reino animal. Los protistas incluyen organismos fotosintéticos, como las algas, y no fotosintéticos, como los hongos y protozoos, que se diferencian por su organización y estructura. Los parásitos del reino animal comprenden los metazoos, organismos pluricelulares (reino animal), que en alguna fase de su ciclo evolutivo viven asociados al hombre (helmintos y artrópodos), grupo en el que también se acostumbran incluir los organismos unicelulares o protozoos.

Algas

Se caracterizan por presentar el pigmento característico de las plantas verdes, la clorofila, que se encuentra en estructuras especializadas de la célula o cloroplastos, que permiten la fotosíntesis con formación de oxígeno. Contienen, además, pigmentos accesorios responsables de su color, que puede ser verde (clorofíceas), marrón (feofíceas) o rojo (rodofíceas).

Constituyen un grupo heterogéneo de organismos (fig. 2-3), que pueden ser monocelulares, de tamaño microscópico, o multicelulares, generalmente filamentosos, y alcanzar un tamaño superior al de algunas plantas. Hay algas unice-

Tabla 2-2. Los grandes grupos de organismos

	Clasificación		Géneros patógenos	
I. Eucariotas	R. animal		Helmintos	+
			Artrópodos	+
	R. protista		Algas	–*
			Hongos	+
			Protozoos	+
II. Procariotas	R. *Procaryotae*		*Archaeobacteria*	–
			Cyanobacteria	–
			Bacteria	+
III. Virus	–		Virus ARN	+
			Virus ADN	+

*Casos excepcionales de oportunismo.

lulares inmóviles o que presentan un tipo de movimiento distinto al flagelar. Las que tienen flagelos se incluyen dentro de los fitoflagelados en una posición intermedia con los protozoos del mismo tipo de locomoción. A pesar de no tener flagelos, algunas algas unicelulares, como las diatomeas, se mueven lentamente sobre las superficies. Existen grandes depósitos fósiles de diatomeas a causa de que su cubierta silícea es prácticamente indestructible. Se reproducen sexual y asexualmente de acuerdo con un mecanismo más o menos complejo.

Se encuentran en general en los lugares húmedos y sobre todo en las aguas de ríos, lagos, estanques o el mar. Las algas marinas tienen un importante papel en el ciclo de la materia orgánica en la naturaleza; su masa total es igual o superior al de las plantas terrestres, ya que, además de las que se encuentran adheridas a las rocas, existe una gran cantidad de algas unicelulares que forman parte del plancton marino (fitoplancton), constituido principalmente por diatomeas y dinoflagelados, que generalmente pasa inadvertido, ya que su densidad no es tan elevada como para comunicar color al agua en que se encuentra. No existen especies patógenas, aunque excepcionalmente se han citado infecciones cutáneas oportunistas por diversas especies del género *Prototheca*.

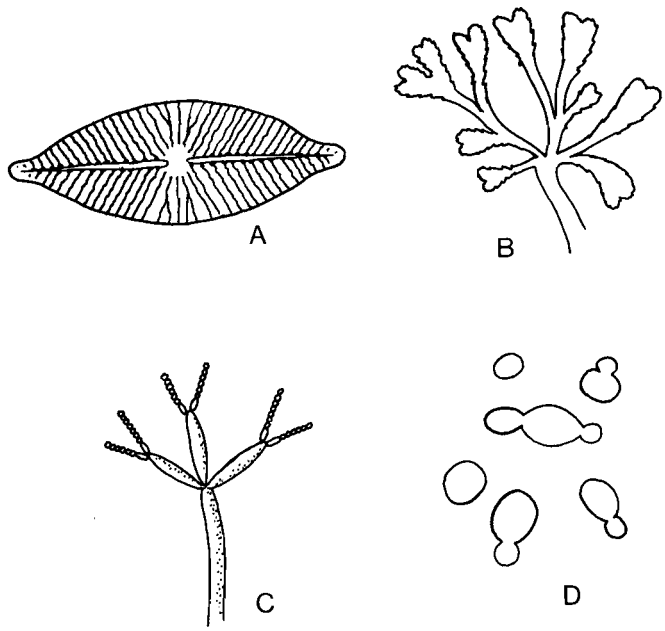


Fig. 2-3. Algas: A) Diatomea *(Navicula)*. B) *Fucus* (fase vegetativa). Hongos: C) Hongo filamentoso *(Penicillium)*. D) Hongo levaduriforme *(Torulopsis)*.

Hongos (fig. 2-3)

Son protistas desprovistos de clorofila (no fotosintéticos), que presentan diferencias netas en cuanto a estructura de la pared celular (polímeros de glucosa o manosa), características de desarrollo (cultivo en medios ácidos, desarrollo lento en forma de micelio o de levadura), sensibilidad a quimioterápicos (que son específicos y en general tóxicos para el hombre) y existencia de mecanismos particulares de reproducción (esporas), que algunos autores justificarían la creación de un nuevo reino.

En su mayoría son hongos multicelulares o filamentosos, que se caracterizan por su estructura miceliana y organización cenocítica. Están constituidos por filamentos ramificados o hifas, que se desarrollan y entrelazan formando el micelio. Las hifas tienen forma de tubo con una pared celular rígida, compuesta por quitina, con tabiques perforados o no tabicados, que contienen una masa citoplásmica multinucleada móvil. Existe un micelio vegetativo adosado a la superficie del sustrato (suelo, plantas, alimentos) y un micelio aéreo o reproductor, donde se forman las esporas (asexuales y sexuales), células dotadas de una cubierta muy resistente, que constituyen los elementos específicos para la reproducción.

Los hongos unicelulares o levaduras presentan una forma oval (5-30 μm), son inmóviles y se dividen por mecanismos diversos, especialmente por gemación. Deben considerarse como hongos que han perdido su forma filamentosa y se han convertido en organismos unicelulares, que en algunos casos se reconocen por la presencia de mecanismos de reproducción sexual. Las levaduras se han podido clasificar entre los ascomicetos, basidiomicetos y hongos imperfectos.

En general, los hongos se pueden dividir en *dimórficos* cuando se desarrollan en forma filamentosa a 25 °C y de levadura a 37 °C, levaduriformes cuando lo hacen siempre en forma de levadura a 25 °C y filamentosos cuando se manifiestan en forma micelial.

Los hongos y levaduras en su mayoría son saprofitos (saprobios), viven libres en la naturaleza, especialmente en la materia orgánica en descomposición, y pueden producir alteraciones en los alimentos, en particular cuando son azucarados. Por su actividad metabólica se utilizan en la fabricación del pan, queso y bebidas alcohólicas (vino, cerveza), así como en la producción industrial de diversos compuestos químicos (ácidos orgánicos, alcoholes, penicilinas).

Por otra parte, existen especies parásitas que forman parte de la flora normal del hombre *(Candida albicans, Pityrosporum)*, algunas de las cuales pueden comportarse como oportunistas y aun presentar carácter patógeno, produciendo enfermedades o micosis, que en general se han dividido en: micosis superficiales o dermatomicosis, micosis subcu-

Tabla 2-3. Hongos (Mycota)

Clasificación (clases y subdivisiones de interés médico)	Géneros y especies más importantes
Zigomycotina (ficomicetos)	*Rhizopus, Mucor*
Ascomycotina (ascomicetos)	*Sacharomyces, Trichophyton*
	Microsporum, Blastomyces dermatitidis
Basidiomycotina (basidiomicetos)	Hongos comestibles y venenosos
	Cryptococcus neoformans
Deuteromycotina (deuteromicetos)	*Epidermophyton, Candida*

Tabla 2-4. Protozoos

Clasificación (clases)	Géneros más importantes
Sarcodina (amébidos)	*Entamoeba, Endolimax, Dientamoeba, Yodoamoeba*
Mastigophora (flagelados)	*Trypanosoma, Leishmania*
Ciliophora (ciliados)	*Balantidium*
Sporozoa (esporozoos)	*Plasmodium, Toxoplasma*

táneas y micosis profundas o viscerales. Por otra parte, existen hongos venenosos, como algunos basidiomicetos (setas venenosas), y especies que durante su desarrollo pueden producir sustancias tóxicas o micotoxinas, o las aflatoxinas producidas por *Aspergillus flavus*.

Atendiendo a su mecanismo de reproducción y otras características, los hongos de interés médico se incluyen en una clase y tres subdivisiones (tabla 2-3), de las cuales las tres primeras comprenden hongos que presentan una fase sexual bien definida, mientras que en la última se incluyen aquellos cuya fase sexual no se conoce (deuteromicetos u hongos imperfectos). Sin embargo, en algunos hongos patógenos de este grupo recientemente se ha descubierto la fase sexual, lo que ha permitido precisar su clasificación.

Protozoos

Constituyen un grupo muy diverso de protistas unicelulares, posiblemente derivados de ciertas algas que habrían perdido su capacidad de fotosíntesis y pueden considerarse como las formas animales más primitivas. Se caracterizan por presentar una membrana fina y estar dotados de movimiento.

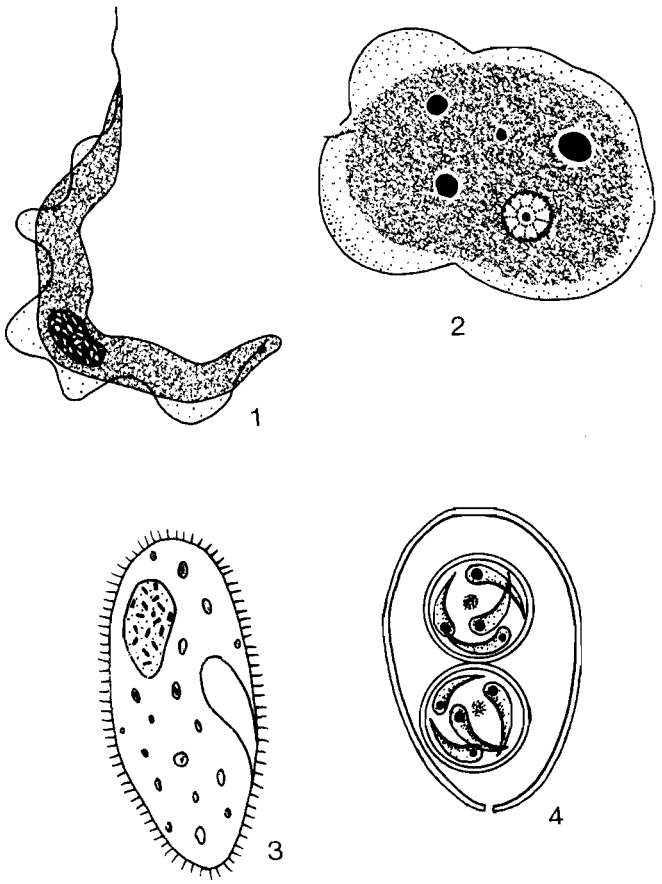


Fig. 2-4. Protozoos: 1) Flagelado (*Trypanosoma*). 2) Amébido (*Entamoeba*). 3) Ciliado (*Balantidium*). 4) Esporozoo (quistes de *Isospora*).

Se encuentran en la naturaleza, especialmente en el suelo y en el agua donde contribuyen a los mecanismos de autodepuración. Un cierto número se hallan adaptados a la vida parasitaria y algunos son causa de enfermedades que se presentan con mayor frecuencia en los países cálidos. Los parásitos humanos se incluyen en cuatro clases (tabla 2-4 y fig. 2-4):

Sarcodina (amébidos). Protozoos de membrana fina que se desplazan merced a la emisión de pseudópodos (movimiento ameboide), que les permiten incorporar partículas diversas (fagocitosis). Existen formas libres, comensales (*Endolimax, Yodamoeba, Dientamoeba*) y parásitos como *Entamoeba hystolitica*, agente causal de la disentería amebiana.

Mastigophora (flagelados). Protozoos que se desplazan por la presencia de apéndices largos y ondulados, muy móviles, denominados flagelos. Existen diversas especies patógenas en los géneros *Trypanosoma* (*T. gambiense* y *T. rhodesiense*, productores de la enfermedad del sueño, *T. cruzi* de la enfermedad de Chagas) y *Leishmania*, especialmente *L. donovani*, agente causal de la leishmaniosis visceral o kala-azar.

Ciliophora o Ciliata (ciliados). Protozoos que presentan numerosos apéndices cortos o cilios que facilitan el movimiento y nutrición. Algunos son parásitos como *Balantidium coli*.

Sporozoa (esporozoos). Especies parásitas inmóviles en sus formas adultas, que presentan mecanismos complejos de reproducción, los cuales comportan ciclos asexuales y sexuales en diversos huéspedes, y alternan formas vegetativas, esporuladas y gametocitos. Los más importantes son los hematozoarios del género *Plasmodium*, productores del paludismo, y los *Toxoplasma*.

Metazoos

Son parásitos pluricelulares, de los cuales tienen interés para el hombre los helmintos y los artrópodos (tabla 2-5 y fig. 2-5). Los helmintos o gusanos son metazoos de simetría bilateral y envoltura musculocutánea, sin apéndices articulados, que se dividen en gusanos de cuerpo aplanado o platelmintos, como *Taenia* y *Schistosoma*, y de cuerpo cilíndrico o nematelmintos, como los nematodos intestinales (*Ascaris, Enterobius, Ancylostoma*) y tisulares (*Trichinella, Filaria*).

Entre los artrópodos, metazoos de cuerpo cilíndrico y quitinoso con apéndices articulados y simetría bilateral, se

Tabla 2-5. Metazoos

Clasificación			Géneros más importantes
Helmintos			
Platelmintos			*Taenia, Schistosoma*
Nematelmintos			*Ascaris, Enterobius, Trichiurus, Ancylostoma, Trichinella, Filaria*
Artrópodos			
Insectos	Dípteros	Múscidos	*Musca, Stomoxys, Glossina*
		Culícidos	*Culex, Anopheles, Aedes*
		Psicódidos	*Phlebotomus*
		Simúlidos	*Simulium*
	Sifonápteros		*Pulex, Xenopsylla, Ceratophyllus, Ctenocephalides*
	Heterópteros		*Cimex, Triatoma*
	Anopluros		*Pediculus*
Arácnidos	Sarcóptidos		*Sarcoptes*
	Ixódidos		*Ixodes, Dermocentor, Rhipicephalus*, etc.
	Argásidos		*Argas, Ornithodorus*
	Trombídidos		*Trombicula*

incluyen las clases *Insecta* (moscas, mosquitos, piojos, pulgas) y *Arachnida* (garrapatas), cuyas formas larvarias o adultas pueden parasitar al hombre o actuar como vectores en numerosas enfermedades infecciosas o parasitarias.

Procariotas

Son protistas de menor tamaño, que presentan la estructura de la célula procariota. Clásicamente en el reino *Procaryotae* se conoce la existencia de dos grandes grupos o divisiones, las *Cyanobacteria*, antiguas algas verdeazuladas o cianoficeas, que son fotosintéticas al igual que las plantas, y las *Bacteria*, que incluyen el resto de procariotas no fotosintéticos o presentan un mecanismo de fotosíntesis distinto.

Por otra parte, se han separado de las *Bacteria* un grupo de microorganismos, que, por presentar una pared celular sin peptidoglicanos, sistemas enzimáticos especiales y una composición muy diferente del ARN, ha hecho que se consideren como los organismos celulares más primitivos y se forme el grupo *Archaeobacteria*, cuya posición taxonómica no está bien definida.

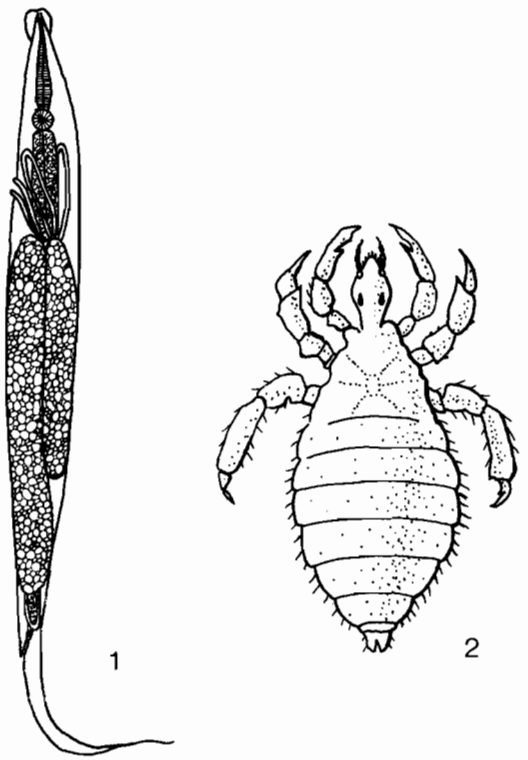


Fig. 2-5. Metazoos: 1) Helmintos (*Enterobius vermicularis*). 2) Artrópodos (*Pediculus hominis*).

Cyanobacteria

Son procariotas fotosintéticos, gramnegativos, unicelulares o filamentosos, de mayor tamaño que las bacterias, que se caracterizan por presentar clorofila y el mismo mecanismo de fotosíntesis aerobio que las algas y plantas superiores. El citoplasma está atravesado por sistemas de membranas aplanadas o tilacoides, en cuya superficie se encuentran gránulos que contienen pigmentos respiratorios (clorofila y ficobilinas). Se considera probable que los cloroplastos de las plantas superiores deriven de cianobacterias endosimbióticas.

Presentan una pared celular con peptidoglicanos y movimientos lentos de deslizamiento o reptación. Algunas especies pueden, además, fijar el nitrógeno atmosférico, lo que explica su extraordinaria ubicuidad. No existen especies patógenas.

Bacteria

Las bacterias constituyen un grupo muy numeroso y heterogéneo de microorganismos que se encuentran muy difundidos. Existe un amplio grupo de vida libre e independiente, que se hallan en el suelo y en su mayoría intervienen en los procesos de transformación de la materia orgánica en mineral: algunas se encuentran en las raíces de las

plantas y tienen una acción decisiva en el crecimiento y desarrollo de los vegetales, y otras presentan acciones fermentativas sobre una gran variedad de sustratos naturales y artificiales, dando lugar a productos de interés industrial.

Por el contrario, existen bacterias que viven asociadas con el organismo del hombre o de los animales. Se encuentran en la superficie de la piel o de las mucosas, y el resultado de su asociación puede ser diverso para el huésped; varía desde la indiferencia o comensalismo hasta el antagonismo y pueden dar lugar a la producción de enfermedades infecciosas, que son numerosas y se presentan con frecuencia.

Las bacterias forman un grupo muy heterogéneo de difícil clasificación tomando como base las relaciones filogenéticas o evolutivas, ya que no existen suficientes datos objetivos para una clasificación natural (cap. 10). Se ha tratado de establecer una clasificación de utilidad práctica para la identificación de las especies aisladas, basada fundamentalmente en el estudio de diversos caracteres fenotípicos (estructurales, morfológicos, fisiológicos, antigénicos, etc.), ninguno de los cuales ha sido totalmente satisfactorio. Según el criterio más utilizado, atendiendo a la presencia y características de la pared celular, se dividen en 3 grupos principales: bacterias gramnegativas, bacterias grampositivas y bacterias sin pared celular.

Bacterias gramnegativas. Es el grupo más numeroso y heterogéneo.

1. *Las bacterias no patógenas de vida libre* se pueden dividir según la fuente de energía y su capacidad de síntesis en:

Fototrofas. Utilizan la luz como fuente de energía y el CO_2 o compuestos orgánicos como fuentes de carbono. Se caracterizan por presentar un mecanismo de fotosíntesis anaerobio con producción de bacterioclorofila y sin la producción de oxígeno libre (fotobacterias verdes y rojas). En este grupo se incluyen en la actualidad las *Cyanobacteria* con mecanismo aerobio, clorofila y liberación de oxígeno.

Quimioautotrofas. Utilizan una fuente de energía química y el CO_2 como fuente principal de carbono. En este grupo se encuentran:

Bacterias deslizantes. Mixobacterias. Bacterias cilíndricas en forma de bastón y recubiertas por una capa mucosa, que presentan una pared celular fina y flexible que les permite movimientos de reptación o deslizamiento en contacto con una superficie sólida. En algunos casos, las células vegetativas pueden agruparse formando cuerpos de fructificación visibles a simple vista (*Myxococcus, Chondromyces*) o no dar lugar a formas de agregación (*Cytophaga*). Presentan una gran actividad metabólica y se encuentran muy difundidas. También existen bacterias deslizantes quimioheterotrofas (*Saprospira*).

Bacterias no deslizantes. Obtienen la energía por oxidación de sustancias inorgánicas. Comprenden las bacterias del nitrógeno (*Nitrobacter*), azufre (*Thiobacillus*), hierro e hidrógeno.

Quimioheterotrofas. Utilizan una fuente química de energía y compuestos orgánicos como fuentes de carbono. Se encuentran diversos grupos de bacilos aerobios:

Bacterias pedunculares o prostecadas. Son bacterias de forma cilíndrica, incurvada o irregular, que en una de sus extremidades presentan prolongaciones que contienen pared celular, formado un apéndice que permite su fijación sobre un soporte sólido (*Caulobacter*).

Bacterias con vaina o tunicadas. Cadenas de bacterias recubiertas por una vaina rígida y transparente (*Sphaerotilus*).

Bacterias fijadoras de nitrógeno. Bacterias que fijan el nitrógeno en condiciones aerobias (*Azotobacter*).

Bacterias del ácido acético. Bacterias que utilizan el alcohol por oxidación y lo transforman en ácido acético (*Acetobacter*).

2. Las *bacterias patógenas u oportunistas* pueden ser de vida libre o parasitaria y en su gran mayoría son quimioheterotrofas. Se subdividen por su morfología y características de la pared (pared rígida: cocos, bacilos y espirilos; pared flexible: espiroquetas), motilidad (por deslizamiento, flagelos o flagelos axiales), condiciones respiratorias (aerobias, anaerobias facultativas y anaerobias estrictas) y otros caracteres. Comprenden una gran variedad de especies patógenas: *Neisseria, Escherichia, Salmonella, Shigella, Pseudomonas, Bacteroides, Vibrio, Campylobacter, Treponema, Leptospira, Borrelia*, etc. (tabla 2-6). Se incluyen, además, un pequeño número de bacterias de menor tamaño, que son parásitos intracelulares estrictos de células eucariotas, entre los que se distinguen las *Rickettsia*, microorganismos de forma cocobacilar (600 × 300 nm), que presentan cierta actividad metabólica independiente, con enzimas respiratorias propias, pero que fuera de la célula no se multiplican debido probablemente a su incapacidad para sintetizar determinados metabolitos y coenzimas que precisan obtener de la célula. Son parásitos intracelulares de los artrópodos que actúan como vectores activos y transmiten la infección (rickettsiosis) al hombre o a los animales. Las *Chlamydia* son organismos cocoides de menor tamaño (300 nm), que, si bien presentan cierta actividad metabólica, se consideran como parásitos energéticos: presentan dos especies de importancia patógena, *C. psittaci* y *C. trachomatis*.

Bacterias grampositivas. Las bacterias patógenas son quimioheterotrofas y se dividen por su morfología (forma regular, irregular o filamentosa), condiciones respiratorias y otros caracteres, como la formación de endosporas. Como más importantes se encuentran los géneros *Staphylococcus, Streptococcus, Bacillus, Clostridium, Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia, Actynomices*, etc. (tabla 2-6).

Bacterias sin pared celular. *Mycoplasma.* Son bacterias de pequeño tamaño (125-150 nm), que carecen de pared celular. Por este motivo presentan un gran poliformismo y fragilidad a los agentes externos, pero son resistentes a los antibióticos, que actúan sobre la pared celular (betalactaminas). Existen dos especies, *M. pneumoniae* y *M. hominis*, capaces de producir infecciones en el hombre.

Clasificación del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984)

El estudio de los caracteres genotípicos de las bacterias mediante técnicas de biología molecular (tamaño del genoma, composición de bases, hibridación del ADN, análisis de

Tabla 2-6. Clasificación del reino Procaryotae

I. *Cyanobacteria*			
II. *Bacteria*			
A. *Bacterias gramnegativas*			
1. *No patógenas* (vida libre)			
Fototrofas			
Quimioautotrofas			
Bacterias deslizantes			
Bacterias no deslizantes			
Quimioheterotrofas			
Bacterias tunicadas			
Bacterias pedunculadas			
Bacterias fijadoras de N			
Bacterias del ácido acético			
2. *Patógenas u oportunistas*			
a) Vida libre o parasitaria			
Quimioheterotrofas			
Bacterias rígidas (motilidad por flagelos o inmóviles)			
Cocos o cocobacilos	Aerobios	*Neisseria, Moraxella, Acinetobacter*	
	Anaerobios	*Veillonella*	
Bacilos rectos	Aerobios	*Pseudomonas, Alcaligenes, Brucella, Bordetella, Francisella.*	
	Anaerobios facultativos	*Escherichia, Klebsiella-Enterobacter-Serratia, Proteus, Salmonella, Shigella*	
	Anaerobios estrictos	*Bacteroides, Fusobacterium*	
Bacilos curvos o en espiral	Aerobios	*Campylobacter, Spirillum*	
	Anaerobios facultativos	*Vibrio*	
Bacterias flexibles (motilidad por flagelos axiales)			
En espiral (espiroquetas)	Aerobios	*Leptospira*	
	Anaerobios	*Treponema, Borrelia*	
b) Parásitos intracelulares estrictos	*Rickettsia*	*Rickettsia, Coxiella*	
	Chlamydia	*C. trachomatis, C. psittaci*	
B. *Bacterias grampositivas*			
Quimioheterotrofas			
Cocos	Aerobios	*Micrococcus*	
	Anaerobios facultativos	*Staphylococcus, Streptococcus*	
	Anaerobios	*Peptococcus, Sarcina*	
Bacilos esporulados	Aerobios	*Bacillus*	
	Anaerobios	*Clostridium*	
Bacilos no esporulados	Forma regular	*Lactobacillus*	
	Forma irregular	*Corynebacterium, Listeria*	
	Forma filamentosa	*Actynomices, Nocardia, Mycobacterium*	
C. *Bacterias sin pared celular*		*Mycoplasma*	

los nucleóticos del ADN, ARN, ARN ribosómico 16S, etc.) ha permitido entrever la posibilidad de obtener información filogenética y poder llegar por este camino a una clasificación natural de las bacterias.

En espera de una clasificación adecuada se ha propuesto (Gibbons y Murray, 1978) una clasificación del reino *Procaryotae* en grandes grupos, basada en caracteres fenotípicos y genotípicos, que, sin estar exenta de objeciones, fuera de utilidad práctica durante este período de transición (tabla 2-7).

Se establecen en el reino *Procaryotae* 4 divisiones, sobre la base de eliminar las *Cyanobacteria* que se incluye dentro de las bacterias gramnegativas fototrofas, elevar a la categoría de división a las bacterias gramnegativas (*Gracilicutes*), grampositivas (*Firmicutes*) y sin pared celular (*Tenericutes*), y crear una nueva división para las *Archaeobacteria* (*Mendicutes*), en espera de que se aclare su situación toxonómica definitiva.

Esta clasificación se ha incluido en el *Manual de Bergey* (1984) de la siguiente manera (tabla 2-7).

División I. Gracilicutes. Procariotas que presentan la pared celular típica de las bacterias gramnegativas, constituida por una membrana externa compleja que recubre la membrana interna formada por una fina capa de peptidoglicano. Generalmente se comportan como gramnegativas. Pueden tener forma esférica, bacilar, en espiral o filamentosa, y algunas pueden ser capsuladas o tunicadas. Se reproducen generalmente por división binaria, pero también por gemación o fisión múltiple, pudiendo dar lugar a cuerpos de fructificación. Pueden ser inmóviles o móviles, incluso por deslizamiento, fototrofas o no fototrofas (litotrofas y heterotrofas), aerobias, anaerobias facultativas o anaerobias estrictas. Incluyen también formas intracelulares obligadas. Se dividen en 3 clases:

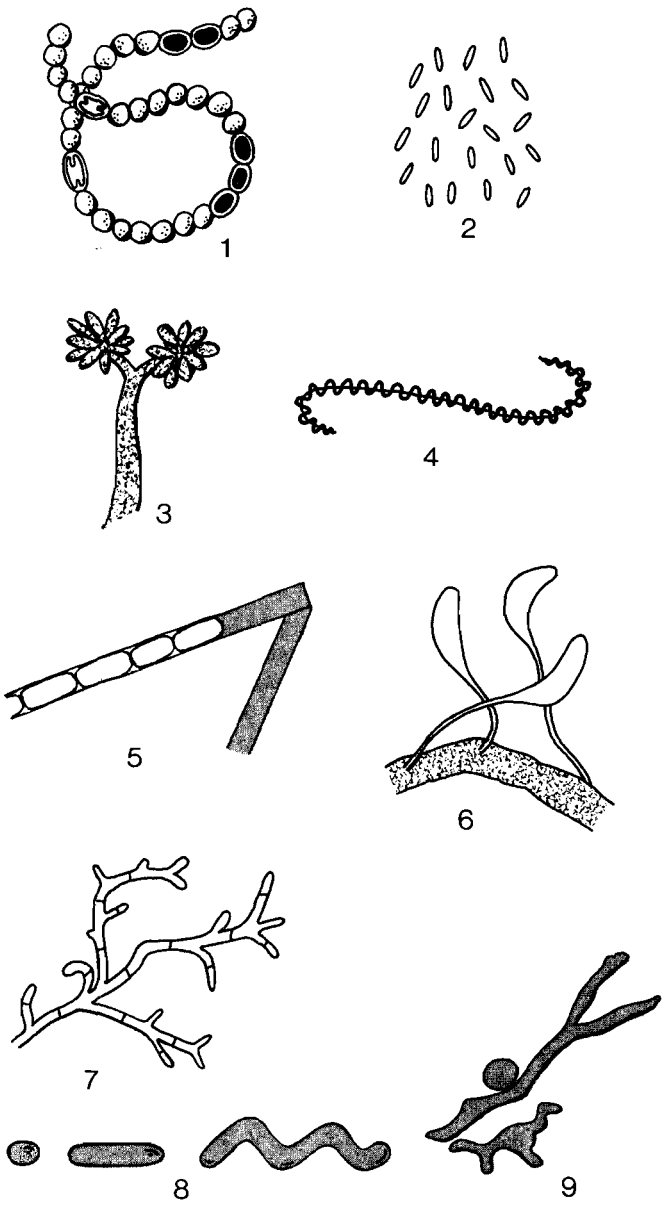


Fig. 2-6. Procariotas: 1) Cyanobacteria *(Anabaena).* 2-9) Bacteria: 2) Mixobacterias *(Chondromyces).* 3) Mixobacterias (cuerpos de fructificación). 4) Espiroquetas *(Leptospira).* 5) Eubacterias filamentosas *(Sphaerotilus).* 6) Eubacterias pedunculadas *(Caulobacter).* 7) Eubacterias micelianas *(Nocardia).* 8) Eubacterias heterotrofas (cocos, bacilos, espirilos). 9) Micoplasmas.

Clase I. *Scotobacteria.* Procariotas indiferentes a la luz, que comprenden la mayoría de bacterias gramnegativas saprofitas, autotrofas o heterotrofas (deslizantes, pedunculadas, filamentosas, etc.) y patógenas (*Neisseria, Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Bacteroides, Spirochaetales),* incluyendo los parásitos intracelulares estrictos *(Rickettsia, Chlamydia).*

Clase II. *Anoxyphotobacteria.* Procariotas fototrofas con mecanismo de fotosíntesis anaerobio (fotobacterias verdes y rojas).

Clase III. *Oxyphotobacteria.* Procariotas fototrofas con mecanismo de fotosíntesis aerobio (*Cyanobacteria*).

División II. Firmicutes. Procariotas con pared celular gruesa de tipo grampositivo. Toman en su gran mayoría el colorante de gram y pueden presentar formas esféricas, bacilar o filamentosa, no ramificadas o ramificadas. Se reproducen por división binaria, a veces con producción de esporos. En su mayoría son quimiohetorotrofas (no fototrofas) y pueden ser aerobias o anaerobias. Se dividen en 2 clases:

Clase I. *Firmibacteria.* Comprenden la mayoría de bacterias grampositivas esporuladas o no esporuladas, saprofitas o patógenas (*Staphylococcus, Streptococcus, Corynebacterium, Bacillus, Clostridium,* etc.).

Clase II. *Thallobacteria.* Incluyen las bacterias filamentosas ramificadas, como los *Actinomycetales* y especies relacionadas.

División III. Tenericutes. Procariotas sin pared celular. Presentan sólo la membrana citoplásmica que les permite una gran variedad de tamaños y formas, desde formas filtrables de 0,2 nm a formas filamentosas ramificadas. Se reproducen por división binaria, gemación o fragmentación. Pueden ser inmóviles o móviles por deslizamiento.

Son gramnegativos, se desarrollan en medios complejos y algunas especies precisan para su crecimiento colesterol y ácidos grasos de cadena larga, y presentan tendencia a penetrar en la superficie de los medios selectivos, dando lugar a colonias en «huevo frito». Se parecen a las formas L de muchas especies bacterianas, pero se diferencian porque son incapaces de sintetizar la pared celular y revertir a una forma estable. Su contenido G + C es menor (43-48 mol %), así como lo es el tamaño del genoma ($0{,}5\text{-}1{,}0 \times 10^2$ daltons). Son resistentes a los antibióticos betalactámicos. Se ha establecido una sola clase.

Clase I. *Mollicutes.* Comprende los *Mycoplasmatales,* que incluyen las especies de *Mycoplasma* patógenos para el hombre. Se considera la posibilidad de establecer nuevas clases en el futuro.

División IV. Mendosicutes. Procariotas de origen filogenético antiguo, que se consideran como las formas más primitivas de bacterias. Se caracterizan porque presentan una pared celular sin peptidoglicano, compuesta por proteínas o heteropolisacáridos; la membrana citoplásmica no contiene esteroles, pero sí otros lípidos específicos. Contienen una mayor proporción de proteínas en los ribosomas y diferencias en el ARN de transferencia, en la secuencia de

Tabla 2-7. Clasificación del reino Procaryotae según el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984)

División I:	**Gracilicutes**
Clases:	*Scotobacteria*
	Anoxyphotobacteria
	Oxyphotobacteria
División II:	**Firmicutes**
Clases:	*Firmibacteria*
	Thallobacteria
División III:	**Tenericutes**
Clase:	*Mollicutes*
División IV:	**Mendosicutes**
Clase:	*Archaeobacteria*

Tabla 2-8. Clasificación de los virus

Acido nucleico	Simetría del cápside	Membrana de envoltura	Familia	Virus
ADN	Icosaédrica	Sí	*Herpesviridae*	Virus herpes, varicela-zoster, de Epstein-Barr, citomegalovirus
		No	*Adenoviridae*	Adenovirus
			Papovaviridae	Virus de la verruga simple
			Parvoviridae	Virus adenoasociados
	Compleja	Sí	*Poxviridae*	Virus de la viruela y vacuna
ARN	Icosaédrica	No	*Picornaviridae*	Poliovirus, virus Coxsackie, virus Echo, virus de la hepatitis A
			Reoviridae	Reovirus, rotavirus, orbivirus
		Sí	*Togaviridae*	Virus de la encefalitis transmitidos por artrópodos, virus de la rubéola
	Helicoidal	Sí	*Bunyaviridae*	Virus de las fiebres hemorrágicas
			Orthomyxoviridae	Virus de la gripe A, B y C
			Paramyxoviridae	Virus parainfluenza, RS y parotiditis
			Rhabdoviridae	Virus de la rabia
			Coronaviridae	Coronavirus
	Compleja o no bien conocida	Sí	*Arenaviridae*	Virus de la coriomeningitis linfocitaria y fiebres hemorrágicas
			Retroviridae	Virus oncógenos, VIH

nucleótidos del ARN y en los aminoácidos de los sistemas enzimáticos. Pueden presentar formas esféricas, bacilares, filamentosas e irregulares de tipo micoplasma. Pueden ser grampositivas o gramnegativas. La mayoría son anaerobias, pero existen aerobias. Algunas son móviles y en general no forman esporas. Presentan propiedades metabólicas diversas, y muchas viven en condiciones ambientales extremas. Se ha descrito una sola clase.

Clase I. *Archaeobacteria*. Comprende 3 grupos de microorganismos:

Halófilos estrictos, bacterias aerobias que precisan para su desarrollo elevadas concentraciones de ClNa.

Metanógenos, bacterias anaerobias formadoras de metano.

Termoacidófilos estrictos, bacterias que se desarrollan en medios ácidos a temperaturas elevadas (80-90 °C).

VIRUS

Los virus ocupan un lugar muy especial, pues, siendo de estructura más sencilla que la célula procariota y careciendo de algunos de sus elementos esenciales, no pueden considerarse como células. Son parásitos intracelulares estrictos de tamaño muy pequeño, en general submicroscópico (18-300 nm), que se caracterizan por su estructura y mecanismo de replicación. Están compuestos por un ácido nucleico (ADN o ARN), encerrado en una cubierta proteica o cápside de estructura simétrica, que lo protege del exterior y facilita su penetración en la célula susceptible, y puede estar rodeado o no por una envoltura. Los virus aislados carecen de metabolismo y se comportan como partículas inertes, pero, en el interior de la célula susceptible, el ácido nucleico, utilizando los mecanismos de biosíntesis de la célula, es capaz de replicarse y de inducir la síntesis de proteínas específicas del virus, que posteriormente se integran dando lugar a nuevos viriones, que se liberan y son capaces de infectar otras células.

Se ha discutido mucho si los virus deben considerarse como seres vivos o microorganismos, lo que depende de las condiciones que se exijan para su definición. Si se consideran como seres vivos u organismos las partículas organizadas compuestas por proteínas y ácidos nucleicos con capacidad de regulación y autoperpetuación, es evidente que, ade-

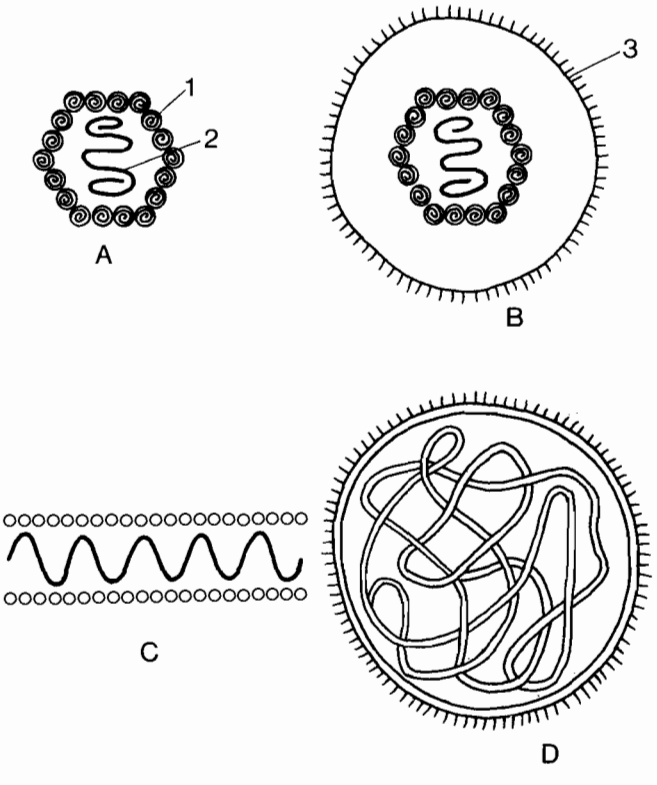


Fig. 2-7. Estructura de los virus. Virus de simetría cúbica: A) Virión icosaédrico desnudo: 1) cápside y 2) ácido nucleico. B) Virión icosaédrico con membrana de envoltura provista de espículas (3). Virus de simetría helicoidal: C) Nucleocápside tubular. D) Nucleocápside apelotonado en ovillo, recubierto de una envoltura con espículas.

más de las partículas organizadas de estructura celular como protistas y procariotas, hay que considerar las partículas organizadas de estructura subcelular que presenten esta composición y propiedades. Aunque los virus aislados sean inertes, cuando se encuentran en la naturaleza en situación intracelular, se comportan como verdaderos agentes infecciosos. En este sentido, los virus quedan fuera de la clasificación de los seres vivos de organización celular y deben considerarse aparte como microorganismos de organización subcelular.

Los virus son parásitos intracelulares estrictos, capaces de infectar células eucariotas y procariotas. Son muy numerosos y producen infecciones en el hombre, animales, plantas y bacterias. Se clasifican atendiendo a su estructura en relación con el tipo de ácido nucleico (virus ARN y ADN), la simetría del cápside (virus de simetría cúbica o helicoidal) y la presencia o no de envoltura, así como otras características (tabla 2-8 y fig. 2-7). Los virus que afectan al hombre y a los animales se denominan virus animales, y su número, como consecuencia de los avances técnicos efectuados en los últimos decenios, ha aumentado considerablemente. Las infecciones que producen se encuentran, junto con las bacterianas, entre las más frecuentes e importantes.

BIBLIOGRAFIA

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984). Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Brock, T. D.: Biology of Microorganisms, 3.ª ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1979.

Cheng, T. C.: Parasitología general. AC, Madrid, 1978.

Davis, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen, H. N., y Ginsberg, H. S.: Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row, Hagerstown, 1980.

Emmons, Ch. W.; Binford, Ch. H.; Utz, J. P., y Kwon-Chung, K. J.: Medical Micology, 3.ª ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.

Fox, G. E.; Stackebrandt, E.; Hespell, R. B.; Gibson, J.; Maniloff, J.; Dyer, A.; Wolfe, R. S.; Balch, W. E.; Tanner, R. S.; Magrum, L. J.; Zablen, L. B.; Blakemore, R.; Gupta, R.; Bonen, L.; Lewis, B. J.; Stahl, D. A.; Luehersen, K. R.; Chen, K. N., y Woese, C. R.: The Phylogeny of Prokaryotes. Science, 209, 457, 1980.

Knight, B. C., y Charles, H. P.: Organization and control in Prokaryotic and Eukariotic cells. Cambridge University Press, London, 1970.

Lwoff, A.: The Concept of virus. J. Gen. Virol., 17, 239, 1975.

Matthews, R. E. F.: Classification and Nomenclature of Viruses. Intervirology, 12, 129, 1979.

Negroni, P.: Morfología y biología de los hongos. El Ateneo, Buenos Aires, 1938.

Schlegel, H. G.: Microbiología general. Omega, Barcelona, 1979.

Senez, J.: Microbiología general. Alhambra, Madrid, 1976.

Stanier, R. Y.; Edelberg, E. A., e Ingraham, J.: The Microbial World, 4.ª ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1976.

Parte I

Bacteriología general

Capítulo 3

Estructura bacteriana (I)

José Angel García-Rodríguez

ELEMENTOS OBLIGADOS: PARED CELULAR, MEMBRANA CITOPLASMICA Y CITOPLASMA

El estudio de la anatomía bacteriana y de la estructura de cada uno de los elementos que la constituyen, así como de su composición, tiene un gran interés.

Precisamente, en este conocimiento se basan respuestas a multitud de cuestiones que se plantean en el campo de las enfermedades infecciosas: patogenicidad y virulencia bacteriana, respuesta inmune del organismo invadido, mecanismo de acción de los antimicrobianos, resistencia a éstos, etc.

La bacteria, como ente unicelular que es y debido a su baja densidad, similar a la del agua, cuando se observa al microscopio óptico, con aumentos aproximados de 1.500 veces, no permite reconocer más que la forma, el tamaño y la agrupación. Mediante tinciones aparece con aspecto homogéneo o granuloso y es posible reconocer, aparte los componentes anteriores, algunas estructuras externas, como la cápsula y los flagelos. Se puede establecer, además, su afinidad tintorial.

El microscopio electrónico facilita la visualización de estructuras más pequeñas, incluso por debajo de 20 nm, estructuras que merced a técnicas más modernas han permitido su individualización, para de esta forma conocer mejor su composición y funciones. Estas han podido determinarse mediante métodos bastante sofisticados: reacciones bioquímicas, espectrometría de absorción atómica, cromatografía, inmunoelectroforesis, etc.

Los elementos bacterianos se dividen en obligados (pared celular, membrana citoplásmica, citoplasma, ribosomas y núcleo) y facultativos (cápsula, flagelos, fimbrias, esporos y *glicocalix*) (fig. 2-2).

En este capítulo, exceptuando el núcleo que se analizará más adelante, se estudian las estructuras constantes de las bacterias: pared celular, membrana citoplásmica y citoplasma.

PARED CELULAR

Es una estructura fundamental para la bacteria, su elemento obligado más externo. A excepción de algunas formas L bacterianas y de los micoplasmas que carecen de ella, es el componente estructural más evidente, pues representa el 20 % aproximadamente del peso en seco, en todos los microorganismos.

Se trata de una cubierta rígida que confiere la forma peculiar a la bacteria, a la que protege de los posibles cambios de presión osmótica que puedan surgir en el medio donde se encuentra.

La pared puede ponerse de manifiesto mediante la tinción por el método de Gram, que permite, de acuerdo con su afinidad tintorial, dividir las bacterias en dos grandes grupos: grampositivas y gramnegativas.

No obstante, la microscopia electrónica es de mayor utilidad al poderse analizar no sólo el aspecto externo que la pared confiere a la bacteria, sino también su estructura. La visión por microscopia electrónica de una preparación de bacterias, impregnadas con tetraóxido de osmio, muestra su aspecto externo: unas veces es rugoso y cerebriforme (fig. 3-1), como sucede en las gramnegativas; en las bacterias grampositivas, es homogéneo y compacto. Algunos bacilos grampositivos presentan relieves longitudinales a modo de dibujos geométricos, pero son más frecuentes y abundantes en las bacterias gramnegativas, debido al importante papel que desempeñan los lípidos, como se demuestra al eliminar dichos componentes mediante trata-

Fig. 3-1. Superficie cerebriforme en una bacteria gramnegativa.

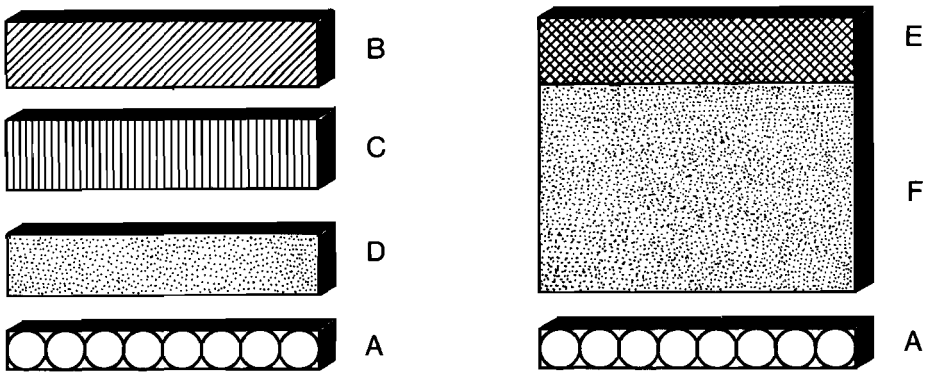


Fig. 3-2. Diferencias estructurales entre los componentes de la pared bacteriana de las bacterias gramnegativas (izquierda) y grampositivas (derecha): A) Membrana citoplásmica; B) lipopolisacárido; C) capa lipoproteica; D) peptidoglicano; E) ácidos teicoicos entrelazados con el peptidoglicano (F).

miento de las bacterias con solventes lipídicos a muy bajas concentraciones.

Cuando se logra eliminar el contenido citoplásmico, la pared aislada presenta el aspecto de un saco vacío y arrugado, conservando a grosso modo la forma bacteriana. En estas paredes aisladas se han podido demostrar poros de grosor variable, que oscilan entre 1 y 10 nm.

Estructuralmente, observando cortes al microscopio electrónico, la pared bacteriana en las bacterias grampositivas surge como una capa gruesa y homogénea, en tanto que en las gramnegativas suele ser delgada y estratificada con un aspecto trilaminar. Aparece separada de la membrana citoplásmica por el espacio periplásmico (fig. 3-2).

Composición

Es diferente según se trate de bacterias grampositivas, gramnegativas o las denominadas ácido-alcohol resistentes. No obstante, todas ellas poseen un componente común que constituye el auténtico esqueleto de la pared: es el peptidoglicano, llamado también glucopéptido, mureína, mucopéptido o mucocomplejo de Park. Sus componentes son dos aminoazúcares alternantes unidos por enlaces β-1-4, la N-acetil-glucosamina (N-A-G) y el ácido N-acetil-murámico (N-A-M). En las bacterias ácido-alcohol resistentes, este último está sustituido por el N-glicosil-murámico (N-G-M).

Cada cadena permanece unida a las adyacentes mediante un tetrapéptido, que se une por su aminoácido inicial, generalmente la L-alanina, al grupo carboxilo del ácido murámico.

La secuencia de aminoácidos en las bacterias gramnegativas es usualmente: L-alanina-D-glutamina-L-ácido diaminopimélico-D-alanina. En la mayor parte de los casos, el ácido pimélico es mesodiaminopimélico y, en las bacterias grampositivas, este último se encuentra sustituido por la L-lisina.

Estas subunidades peptídicas, así como los glicanos adyacentes, en las bacterias gramnegativas se unen directamente a través del grupo amino del ácido diaminopimélico con el carbono terminal de la D-alanina existente en otra cadena. En las grampositivas, la unión se establece mediante un puente formado por un pentapéptido de glicina que une el último aminoácido de un tetrapéptido (D-alanina) con el penúltimo del tetrapéptido subyacente (L-lisina) (figs. 3-3 y 3-4).

Las longitudes de las cadenas de aminoazúcares y la composición y estructura de los puentes interpeptídicos son diferentes para las distintas especies bacterianas, y las cadenas varían de 10 a 170 unidades de disacáridos. El peptidoglicano es muy abundante en las bacterias grampositivas

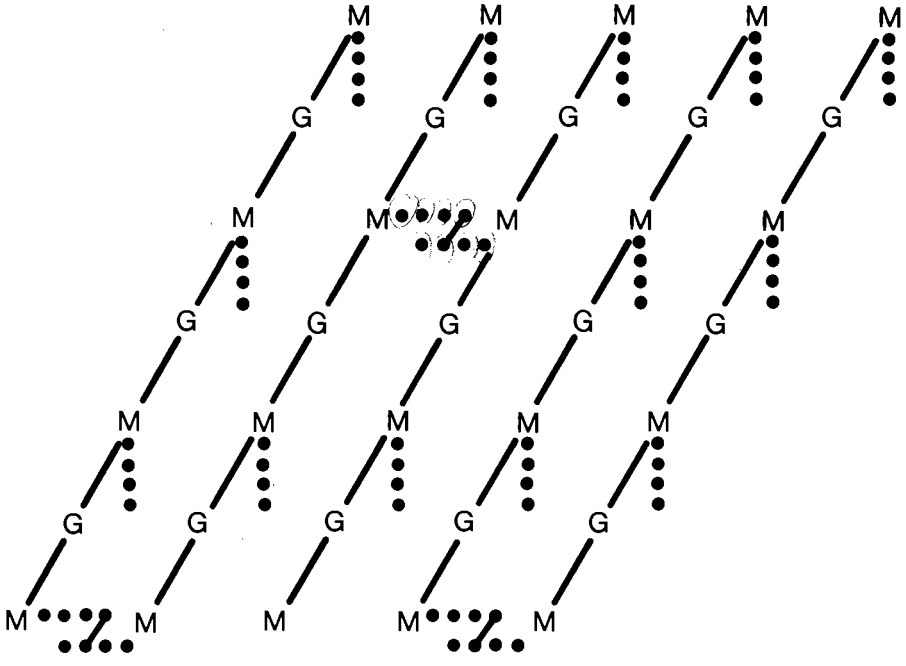


Fig. 3-3. Representación esquemática de la unión entre las cadenas peptídicas del peptidoglicano en las bacterias gramnegativas. La unión se produce directamente entre el grupo amino del ácido diaminopimélico de una cadena y el carbono terminal de la D-alanina de la otra.

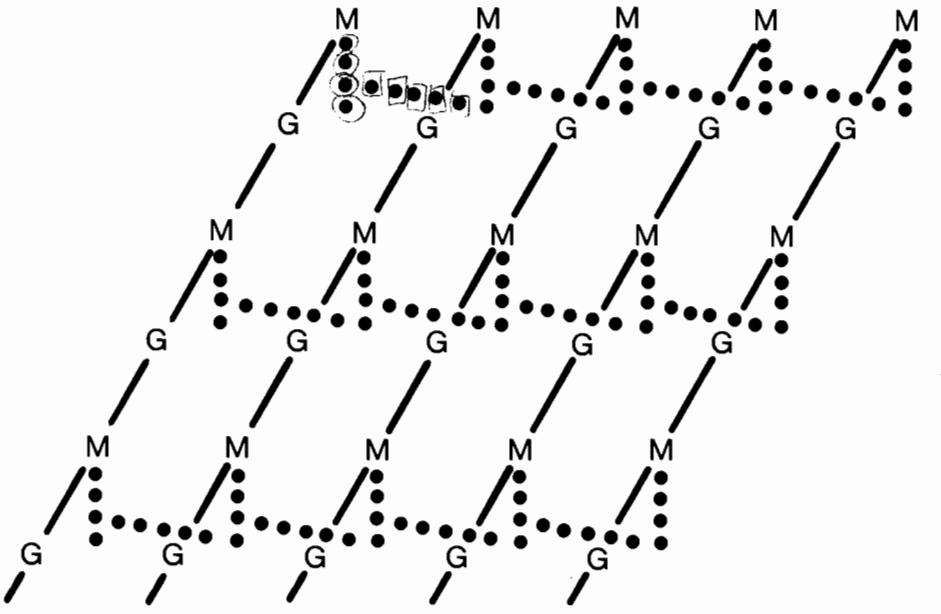


Fig. 3-4. Representación esquemática de la unión entre las cadenas peptídicas del peptidoglicano en las bacterias grampositivas. La unión se produce mediante puentes interpeptídicos de pentaglicina, que conectan el carboxilo del residuo terminal de la D-alanina de una cadena con el grupo amino de la L-lisina de la otra.

(entre el 50 y 90 %) y escaso, aunque siempre presente, en las gramnegativas (aproximadamente un 10 %).

Grampositivas

En estos microorganismos, la pared se identifica prácticamente con el peptidoglicano que aparece con un grosor de 10 a 20 nm. No obstante, en la pared de algunas bacterias de este grupo (estreptococo del grupo A) se encuentran proteínas y polisacáridos que recubren al glucopéptido, formando un polisacárido grupo-específico (polisacárido C), que aparece recubierto a su vez por una proteína (proteína M) tipo-específica (fig. 3-5).

Se suelen encontrar, aunque solamente en las bacterias grampositivas, ácidos teicoicos. Se trata de polímeros de ribitol-fosfato o glicerol-fosfato solubles en agua, que se integran en cadenas de más de 30 unidades. A pesar de no conocer su localización exacta, se cree que se unen covalentemente al peptidoglicano. Pueden llegar a constituir el 50 % del peso en seco de la pared.

Existe un pequeño porcentaje de ácidos gliceroteicoicos, que aparecen asociados a la membrana citoplásmica a través de grupos lipofílicos de ésta, se conocen con el nombre de ácidos lipoteicoicos y atravesarían toda la capa del peptidoglicano desde la membrana citoplásmica. Sus funciones no son aún conocidas, a pesar de que parece que inhiben el fenómeno de agregación en algunas bacterias como *Streptococcus pneumoniae;* recientemente se ha demostrado, en estreptococos del grupo A, que estos componentes favorecen la adherencia del microorganismo a las células epiteliales de la orofaringe.

Los ácidos teicoicos parece que intervienen en el mantenimiento de la integridad de la pared celular, ya que están cargados negativamente y pueden unirse con iones Mg^{++}, por ejemplo, facilitando aquella integridad. Son lugares de recepción de fagos, y su importancia es tal que pequeñas modificaciones estructurales alteran tanto el patrimonio antigénico de la bacteria como su susceptibilidad a la lisis fágica (fig. 3-6).

Gramnegativas

La pared de las bacterias gramnegativas es más compleja en composición y estructura que la de las grampositivas. El peptidoglicano es sólo una pequeña porción de la pared, en

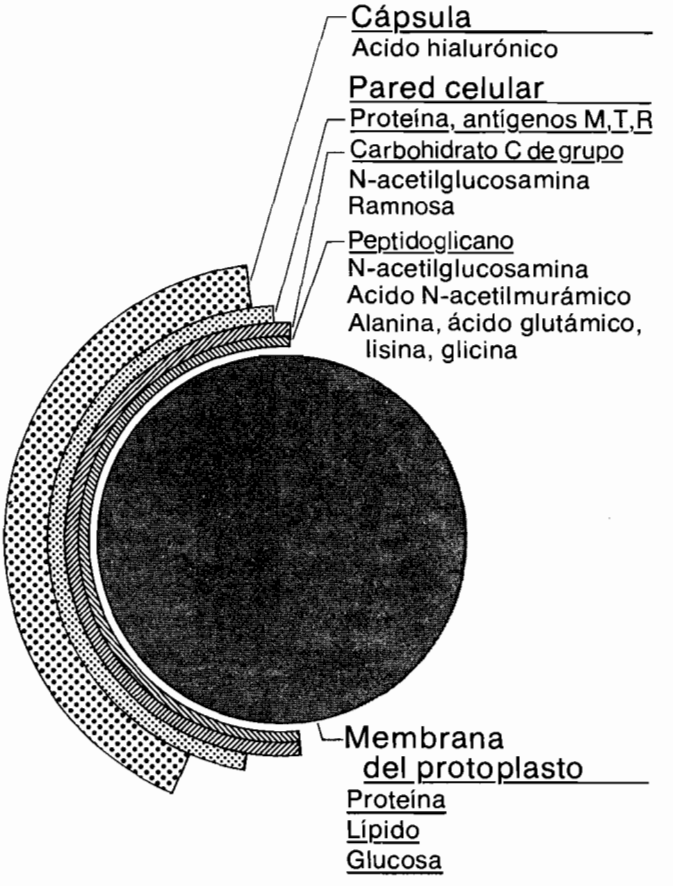


Fig. 3-5. Esquema de un corte de *Streptococcus pyogenes* del tipo A, mostrando todos los componentes estructurales externos.

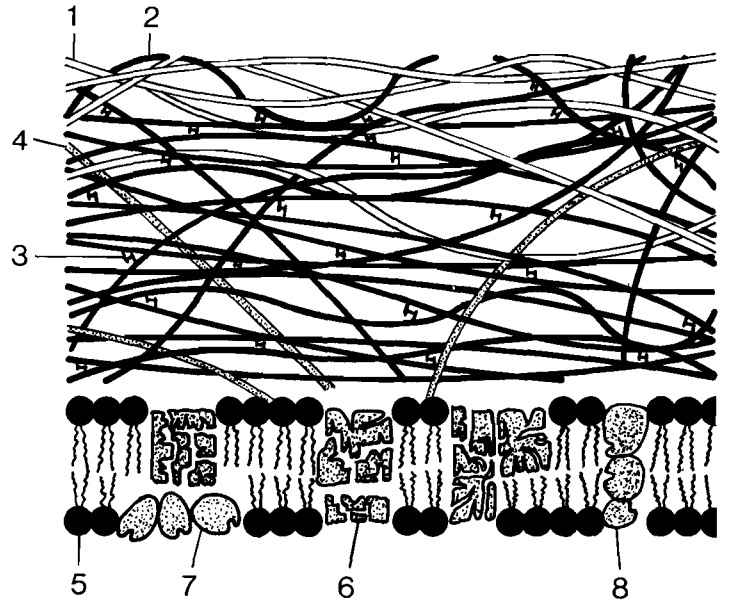


Fig. 3-6. Representación estructural de la pared bacteriana y la membrana citoplásmica de las bacterias grampositivas: 1) ácidos teicoicos; 2) peptidoglicano; 3) enlaces del peptidoglicano; 4) ácidos lipoteicoicos; 5) fosfolípidos; 6) proteínas; 7) enzimas cuya función es dirigida hacia el citoplasma; 8) enzimas sintetizadoras de componentes de la pared bacteriana.

la que predominan las proteínas, fosfolípidos y lipopolisacáridos que se unen formando otras capas (fig. 3-7).

Por microscopia electrónica se separan tres zonas claramente diferenciadas. La más externa, cuyo grosor oscila entre 6 y 10 nm, está compuesta de lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas. El lipopolisacárido se subdivide a su vez en tres partes: una cadena glucídica que se dispone en la zona más externa y que le confiere tipo-especificidad (O-especificidad) al tratarse de un antígeno de superficie (antígeno O), una parte central o *core* que es grupo-específica, y una porción lipídica (lípido A), responsable de la toxicidad en estas especies bacterianas al identificarse con la endotoxina. El lipopolisacárido desempeña un importante papel de barrera frente a determinados antibióticos, como la penicilina, que por esta razón es poco eficaz en general frente a gramnegativas. El paso a la fase R (rugosa) de la bacteria, que supone la eliminación del lipopolisacárido superficial, favorece la efectividad de dicho antibiótico.

El lipopolisacárido mediante enlaces hidrófobos se une a la denominada membrana exterior, que es una doble envoltura de fosfolípidos sobre la que se empotran una serie de proteínas específicas. Dos de estas proteínas, denominadas principales, se extienden de una a otra cara de esta membrana exterior y se ponen en contacto directamente con la capa del peptidoglicano.

Se trata de proteínas (porinas) que constituyen la matriz, conjuntamente con las lipoproteínas, y se ordenan en gru-

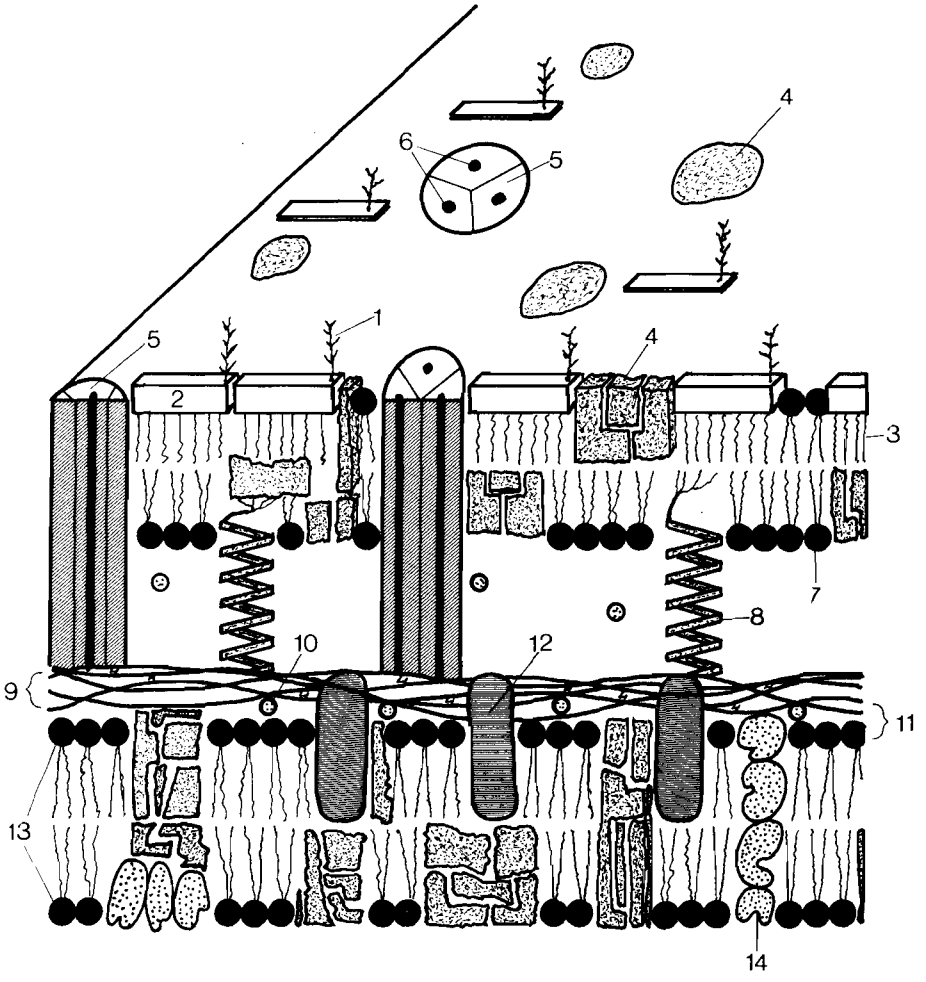


Fig. 3-7. Estructura de la pared y membrana citoplásmica de las bacterias gramnegativas. 1) Cadena glucídica del lipopolisacárido. 2) *Core*. 3) Lípido A. 4) Proteínas. 5) Porinas. 6) Poros. 7) Fosfolipidos. 8) Lipoproteínas (Braun). 9) Peptidoglicano. 10) Betalactamasas. 11) Espacio periplásmico. 12) PBP (proteínas ligadoras de penicilinas). 13) Fosfolípidos de la membrana citoplásmica. 14) Enzimas.

pos de tres formando conductos que no son más que los poros referidos antes. A través de estos poros difunden de forma pasiva pequeñas moléculas, pero se impide el paso de otras mayores (por encima de 600 daltons) como determinados antibióticos, lo que explica una mayor resistencia de las bacterias gramnegativas a los antimicrobianos.

Pero, además, esta membrana externa tiene unas funciones que son primordiales para las bacterias y se han conocido recientemente: por medio de las proteínas se establece un transporte activo de moléculas; puede servir de asiento de determinados fagos, bacteriocinas y nucleósidos, y parece que interviene activamente en los procesos de replicación del ADN, en la división bacteriana y en los procesos de conjugación. Constituye, por último, una membrana de protección frente a enzimas hidrolíticas del tipo de la lisozima, que tan activas se muestran, por el contrario, sobre las bacterias grampositivas al romper los enlaces β-1-4 del peptidoglicano.

La capa intermedia es más fina (tiene de 3 a 8 nm de espesor) y está integrada por moléculas de lipoproteínas. La parte proteica se une de forma covalente con el peptidoglicano, y por su parte lipídica mediante interacciones hidrofóbicas queda unida a los fosfolípidos de la capa más externa. Esta zona intermedia posee importantes sistemas enzimáticos que favorecen el transporte de nutrientes a través del peptidoglicano y de la membrana citoplásmica.

La zona más profunda es la del peptidoglicano (alrededor de 2 nm de espesor), que se relaciona con la membrana citoplásmica mediante enlaces iónicos y a las capas más superficiales mediante las moléculas de lipoproteínas.

Acido-alcohol resistentes

Este grupo incluye bacterias que pertenecen al género *Mycobacterium* (bacilo tuberculoso, bacilo de la lepra, etc.) y algunas especies del género *Nocardia*.

Como se expone más adelante, la denominación se debe a la capacidad de resistir a la decoloración con un alcohol y un ácido fuerte cuando han sido previamente teñidas. Esta propiedad se debe a que estas bacterias poseen en su pared los denominados ácidos micólicos.

Se trata de ácidos grasos, no saturados, de cadena larga y que se sintetizan a partir de precursores similares, por mecanismos parecidos, para los géneros *Mycabacterium* y *Nocardia*. Se presentan en forma esterificada ligados al polisacárido superficial, o de forma libre extractable (glicolípidos); forman el denominado *cord factor*.

El resto de las estructuras son semejantes a la pared descrita para las bacterias grampositivas, ya que así se viene considerando este grupo, a pesar de no haberse descrito ácidos teicoicos en especie alguna (fig. 3-8).

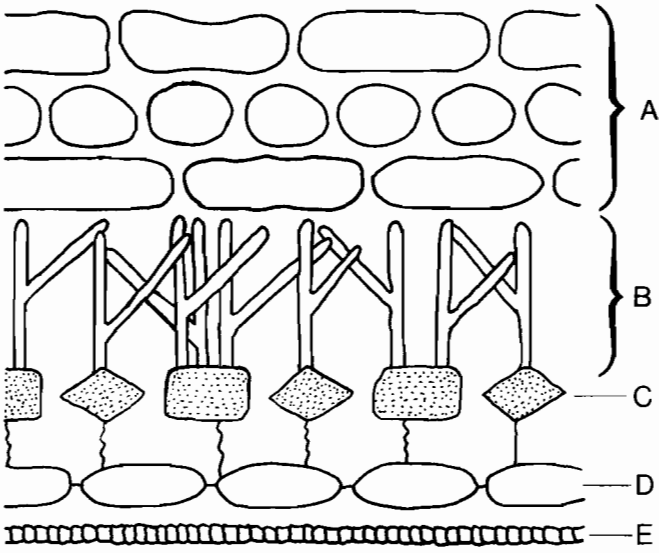


Fig. 3-8. Pared de bacterias ácido-alcohol resistentes: A) *cord factor*; B) ácidos micólicos; C) arabino-galactano; D) peptidoglicano; E) membrana citoplásmica.

Síntesis de la pared bacteriana

Es muy importante sobre todo para comprender el mecanismo de acción de determinados antibióticos como los β-lactámicos. Cuenta, en resumen, con cuatro fases:

1. Síntesis de precursores en el citoplasma. En ella, a partir de la N-acetil-glucosamina-1-fosfato (NAG-1-fosfato) se forma uridindifosfato-ácido-N-acetilmurámico-pentapéptido (UDP-NAM-pentapéptido). Por la intervención de distintos sistemas energéticos y enzimáticos, la NAG-1-fosfato se transforma en UDP-NAG, que condensándose con el fosfoenolpiruvato se transforma en UDP-NAM. A éste se le incorporan secuencialmente tres aminoácidos, L-alanina, D-glutámico y L-lisina (en los gramnegativos ácido mesodiamino-pimélico), transformándose en UDP-NAM-tripéptido. Por otra parte, la L-alanina se transforma en D-alanina por una racemasa, y una sintetasa se encarga de unir dos moléculas, constituyendo el dipéptido terminal de D-alanina-D-alanina. Este se une a UDP-NAM-tripéptido formando el UDP-NAM-pentapéptido.

2. Transporte del precursor a través de la membrana citoplásmica y formación de un polímero de peptidoglicano (disacárido pentapéptido). En esta fase, el UDP-NAM-peptapéptido se une por un enlace pirofosfato a un lípido de la membrana (undecaprenilfosfato) que actúa como portador. Posteriormente, a este compuesto se integra N-acetilglucosamina formando el complejo NAM-pentapéptido-NAG. Ulteriormente, en las grampositivas se incorpora a la lisina del peptapéptido un puente de cinco moléculas de glicina.

3. Formación o elongación del polímero lineal: en esta fase, se transfiere el disacárido pentapéptido del lípido, transportador de la membrana citoplásmica, a un aceptor en el extremo terminal del peptidoglicano. A su vez, el lípido transportador se regenera para su reutilización por una fosfatasa, transformándose de pirofosfato en fosfato.

4. Formación de puentes entre los polímeros: en esta etapa terminal se forman puentes de unión cruzados entre el tercer aminoácido del pentapéptido y el cuarto (D-alanina) de la cadena siguiente, con liberación de la D-alanina. Esta reacción se conoce con el nombre de transpeptidación. En las grampositivas, la transpeptidación se realiza mediante un puente de pentaglicina, mientras que en los gramnegativos el tercer aminoácido, que es ácido meso-diaminopimélico, se une directamente con el cuarto (D-alanina).

Funciones y propiedades de la pared bacteriana

1. La pared celular, aunque con cierta elasticidad y ductibilidad, protege la bacteria a modo de exoesqueleto asegurando que su morfología celular sea relativamente constante. Le confiere una gran resistencia para soportar altas presiones externas u osmóticas internas, que pueden ser manipuladas incluso en medios hipotónicos.

2. Participa en la división bacteriana y se invagina en el citoplasma para formar, junto con la membrana citoplásmica, el tabique de separación.

3. Actúa como filtro, merced a la presencia de poros de 1 a 10 nm de diámetro, impidiendo la entrada de macromoléculas, pero permite el paso de agua y metabolitos esenciales.

4. Es un factor determinante del poder patógeno bacteriano, pues en las gramnegativas, como se ha señalado, la endotoxina se localiza en la pared.

5. Los antígenos tipo y grupo-específicos se hallan en la pared junto con los receptores fágicos, que se encuentran preferentemente en el polisacárido superficial.

6. Es el sustrato sobre el que actúan, entre otros, antimicrobianos de muy amplio uso, como los β-lactámicos.

7. Aunque teóricamente no se ha encontrado mecanismo alguno que explique la coloración por el método de Gram, es evidente la relación tinción-tipo de pared, que permite diferenciar las bacterias grampositivas de las gramnegativas. En la tabla 3-1 se incluyen los caracteres diferenciales más importantes entre ambos tipos.

Bacterias sin pared celular

Existen en la naturaleza algunas bacterias patógenas para la especie humana y los animales que carecen de pared bacteriana. El género *Mycoplasma*, que comprende auténticas bacterias, constituye el ejemplo más claro. Se trata de microorganismos incapaces de sintetizar la pared y requieren colesterol o esteroles para su crecimiento. Dada su fragilidad, sólo pueden ser cultivados en medios hipertónicos.

Aparte este fenómeno natural, cuando se modifican las condiciones ambientales, determinadas bacterias que poseen pared pueden perderla tanto *in vitro* como *in vivo* y transformarse en formas L.

En el laboratorio, estas formas L se obtienen al someter una suspensión bacteriana a la acción de enzimas parietolíticas (lisozima) o de antibióticos inhibidores de la síntesis de componentes parietales (penicilinas y cefalosporinas). Surgen así bacterias sin pared que han perdido tanto la forma típica como su resistencia y parte de sus propiedades inmunológicas, etc.

Algunas se denominan «formas L inestables» por volver a la fase original, debido a que la pérdida de la pared fue parcial. La pérdida total, sin retornar a la forma original, da lugar a las llamadas «formas L estables». Ambos términos parecen corresponder a los de *protoplastos* y *esferoplastos*, que tienen lugar, respectivamente, en las bacterias grampositivas y gramnegativas.

Estos aspectos tienen una enorme importancia en medicina: la aparición de formas L, principalmente inducidas por antibióticos en el huésped, puede explicar fracasos terapéuticos, ya que el antibiótico deja de ser eficaz al eliminarse el sustrato de actuación, y el microorganismo persiste en el espesor del tejido afectado al abrigo de las defensas del huésped. La posibilidad de retornar a la forma original puede dar lugar a recaídas e incluso a la cronificación de un proceso de difícil tratamiento, como sucede en algunas endocarditis.

MEMBRANA CITOPLASMICA

Se trata de una estructura obligada de las bacterias, que es constante en todas sin excepción y constituye del 20 al 30 % del peso bacteriano. Se sitúa por dentro de la pared celular, de la que está separada por el espacio periplásmico.

El método utilizado para su estudio, aparte la microscopia electrónica, útil en el conocimiento estructural, es el de la plasmólisis, con eliminación de la pared que se logra tras someter a las bacterias a un medio hipertónico o a la acción de la lisozima. También puede estudiarse, aislando las membranas por centrifugación de formas L que se lisan por pases en agua destilada. Con ambos procedimientos se consigue realizar el análisis químico de sus componentes.

Estructura y composición

Los componentes propios de la membrana citoplásmica son fosfolípidos y proteínas en proporciones aproximadas del 40 y 60 %, respectivamente. Estos lípidos, en un princi-

Tabla 3-1. Diferencias fundamentales entre bacterias grampositivas y gramnegativas

	Grampositivas	Gramnegativas
Decoloración por alcohol-acetona	No	Sí
Coloración final (Gram)	Violeta	Rojo
Superficie	Homogénea, compacta	Rugosa, cerebriforme
Espesor del peptidoglicano	10-20 nm	2 nm
Presencia de lípidos	+ (3 %)	+++ (20 %)
Endotoxina	No	Sí
Acidos teicoicos	Sí	No
Mesosomas	Presentes	Raros o ausentes
Sensibilidad a lisozima	Sí	No
Sensibilidad a β-lactámicos	+++	+
Inhibición por el cristal violeta	+++	–
Sensibilidad a los detergentes aniónicos	+++	–
Sensibilidad a la lisis por el complemento	+	+++
Relación ARN-ADN en la célula (aprox.)	8/1	1/1

pio, se consideraba que se agrupaban en una doble capa (no perceptible) con los polos hidrófilos hacia fuera y los hidrófobos hacia dentro y permanecían envueltos por una doble lámina proteica. Esta hipótesis explicaba el aspecto trilaminar que aparecía en las preparaciones de membranas examinadas al microscopio electrónico.

Recientemente se ha propuesto otro modelo en el que los fosfolípidos formarían una doble capa, que englobaría las proteínas de aspecto globular dentro de aquella matriz fosfolipoidea, proteínas que se disponen plegadas de forma irregular. Los fosfolípidos son diferentes para las bacterias gramnegativas, con predominio de la fosfodietanolamina, y para las grampositivas en las que no existe predominio alguno (fig. 3-9).

Se ha demostrado, además, la presencia, aunque en pequeña proporción, de glicolípidos. Estos últimos intervendrían en la formación de poros en el interior de la membrana.

Por último, se han demostrado sustancias biológicamente activas, fundamentalmente de naturaleza proteica, del tipo de las fosfatasas alcalinas, enzimas hidrolíticas (permeasas), etc. Algunas penicilinasas producidas bajo control cromosómico pueden estar relacionadas con la membrana, y a favor de este hecho se ha comprobado, por ejemplo, que en *E. coli* sólo se liberan tras la formación de esferoplastos.

Relacionados con la membrana citoplásmica aparecen varias estructuras y componentes, entre los que destacan los ribosomas, que se estudiarán conjuntamente con el citoplasma (a pesar de que el 90 % de los ribosomas se obtienen a partir de la membrana); además, aparecen asociados el ADN y el ARNm (ARN mensajero). Todas estas circunstancias explicarían el alto peso de la membrana en relación con el resto de las estructuras bacterianas.

En la cara externa de la membrana citoplásmica se encuentran las proteínas fijadoras de penicilina (PBP). Estas proteínas intervienen en la síntesis del peptidoglicano y son la «diana» de los antimicrobianos betalactámicos. Las que mejor se conocen son las de *E. coli*, donde se han descrito seis tipos: PBP-1, PBP-2, PBP-3, PBP-4, PBP-5 y PBP-6. Cada una de ellas tienen diferentes funciones. La PBP-1 (1a y 1b) posee actividad transpeptidasa, las PBP-3, PBP-4 y PBP-5 se comportan como carboxipeptidasa y la PBP-6 tiene actividad transpeptidasa. Las tres más importantes son la PBP-1, PBP-2 y PBP-3 (PBP esenciales), siendo responsables, respectivamente, de la elongación celular, forma bacteriana y septación.

Propiedades y funciones

1. Es una barrera osmótica, que forma conjuntamente con la pared una verdadera membrana funcional con mecanismos activo y pasivo de acuerdo con el tipo de sustancias y las situaciones.

La membrana citoplásmica sola actúa como una barrera selectiva, fundamentalmente activa. A través de ella se produce un intensísimo trasiego de moléculas, en ambas direcciones, merced a las abundantes permeasas presentes.

Es preciso destacar que esta función de barrera es notable en la actividad osmótica, sobre todo en las bacterias grampositivas, que logran acumular en su interior hasta más de 100 veces la concentración de aminoácidos existentes en el exterior, así como una gran concentración de otras sustancias solubles.

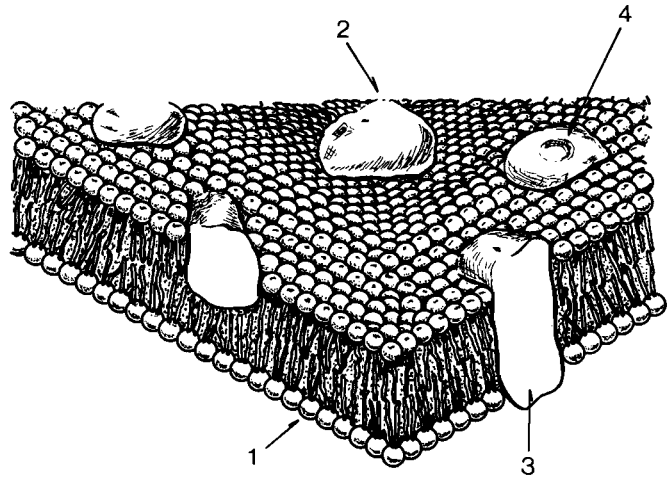


Fig. 3-9. Modelo de la estructura de la membrana citoplásmica: 1) fosfolípidos; 2) proteínas estructurales; 3) proteínas tipo permeasas; 4) enzimas.

En otro sentido debe también funcionar como una barrera pasiva con pequeños poros (aunque no se observen al microscopio electrónico), puesto que moléculas de solutos pueden pasar en ambas direcciones, en tanto que las grandes moléculas no lo hacen.

2. La función de barrera activa requiere una gran cantidad de energía que se produce *in situ* a consecuencia de las reacciones de fosforilización oxidativa que transforma el ADP en ATP. Estas sustancias, así como las enzimas que intervienen, se localizan también en proporciones considerables en la membrana citoplásmica.

3. Por los componentes enzimáticos, el ARNm, etc., es fácil suponer que las sustancias integrantes de la pared celular y de la cápsula se sinteticen en la membrana citoplásmica. Además, son también estos sistemas enzimáticos los que transportan e incorporan las unidades estructurales en los puntos de la pared donde deben encajar.

4. Es la estructura sobre la que actúan detergentes y antimicrobianos del tipo de los antibióticos polipeptídicos (polimixinas).

Mesosomas

Con cierta frecuencia, en preparaciones de bacterias grampositivas observadas al microscopio electrónico aparecen estructuras membranosas invaginadas a partir de la membrana citoplásmica, que a modo de remolinos u ovillos se colocan en una posición más o menos centrada y a las que se les ha dado el nombre de mesosomas. En las bacterias gramnegativas, aparte ser más inconstantes, son más pequeños (fig. 3-10).

Estructuralmente y en su composición son idénticos a la membrana citoplásmica y se dividen de acuerdo con la función que tienen encomendada en septales y laterales.

Los mesosomas septales intervienen arrastrando la membrana citoplásmica hacia el centro, induciendo la formación del tabique de separación tanto en la división celular como en la formación del preesporo. De manera similar, participan en el desdoblamiento y separación del cromosoma bacteriano durante la división celular, puesto que el ADN bacteriano permanece fijado al mesosoma del tabique.

Fig. 3-10. Microfotografía electrónica de mesosomas en *B. subtilis*.

Los mesosomas laterales tienen funciones secretoras especialmente por sintetizarse en ellos exoenzimas del tipo de las β-lactamasas. Precisamente, debido a esta riqueza enzimática, desempeñan un papel equivalente a las mitocondrias de las células superiores, sobre la base fundamentalmente de enzimas respiratorias. No obstante, en publicaciones recientes, algunos investigadores sugieren que los mesosomas son simples artefactos sin función específica alguna.

Espacio periplásmico

Se trata de un espacio virtual que se muestra con mayor frecuencia en las bacterias gramnegativas que en las grampositivas, debido a que aquéllas poseen una presión osmótica interna 3 a 5 veces menor.

Situado entre la membrana y la pared, su aspecto y contenido son variables según el tipo de bacteria y el estado metabólico en que se encuentra. En su interior se retienen diferentes sustancias, como proteínas y fosfatasas alcalinas y ácidas, se considera que contienen otras enzimas del tipo de las desoxirribonucleasas, ribonucleasas y penicilinasas controladas por plásmidos, iones inorgánicos, etc. y no faltan experiencias que hayan demostrado la presencia temporal de exotoxinas.

CITOPLASMA BACTERIANO

El citoplasma bacteriano es un sistema coloidal formado por agua (alrededor del 85 %), principios inmediatos, minerales y fermentos. Contiene, además de las estructuras mesosómicas y el cromosoma bacteriano, que se estudia aparte, los ribosomas y las inclusiones. No posee mitocondrias ni cloroplastos.

Ribosomas (cuerpos ARN)

Son estructuras extraordinariamente numerosas, hasta el punto de que en el momento de la división bacteriana se pueden detectar más de 10.000 y conforman del 25 al 30 % del peso de la bacteria.

Los métodos de estudio de los ribosomas, aparte la microscopia electrónica, se basan en el aislamiento por ultracentrifugación a partir de bacterias fragmentadas. Las características bioquímicas se conocen gracias a la electroforesis en gel de poliacrilamida y a la cromatografía.

Estructuralmente se presentan al microscopio electrónico como gránulos densos, homogéneos, redondeados, pero ligeramente aplanados, con un diámetro aproximado de 20 nm. Suelen presentarse agrupados en 3-4 elementos unidos por un filamento de ARN mensajero, agrupaciones denominadas polirribosomas.

Bioquímicamente, el ribosoma o unidad ribosómica tiene una constante de sedimentación de 70S (S = unidades Svedberg de sedimentación) y está compuesto por 2 fracciones o subunidades 30S y 50S, a diferencia de los ribosomas de células superiores que son unidades 80S, con subunidades 40S y 60S.

Aunque compuesto de ARN y proteínas, el contenido principal es el ARN ribosómico (ARNr), que constituye el 80 % del ARN total.

Las proteínas ribosómicas son muy diversas y representan el 10 % del total proteico celular. La asociación de ARNr + proteínas ribosómicas específicas constituye la entidad estructural y funcional que es el ribosoma, en el que tiene lugar la síntesis proteica.

A su nivel se verifica la traducción metabólica del código genético portado por el ARN mensajero (ARNm), y en ellos convergen, por lo tanto, el ARNr, el ARNm más el ARN de transferencia (ARNt) que aporta los aminoácidos.

En medicina tienen gran trascendencia por ser el punto de impacto de antibióticos aminoglicósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas.

Inclusiones citoplásmicas

Comprenden una serie de elementos, generalmente sin estructura uniforme, que sirven como mecanismos de regulación o almacenaje. Son de naturaleza muy diversa y se observan con mayor frecuencia en las fases de reposo o envejecimiento celular.

Aunque es muy difícil establecer su clasificación, se vienen considerando dos tipos:

1. Vacuolas. Son acumulaciones de líquidos o gases rodeadas de una limitante membranosa, no membrana, resultante de una condensación perivacuolar. Al microscopio electrónico se observan como espacios vacíos, por desaparición del contenido tras el corte. Su función de «osmómetros» es discutida, porque con frecuencia aparecen en células viejas próximas a la lisis. Pudiera tratarse, entonces, de la traducción de fenómenos degenerativos intracitoplásmicos.
2. Granulaciones. Son inclusiones sólidas, constituidas por sustancias de reserva que pueden observarse a veces directamente con el microscopio óptico. Los colorantes específicos y sobre todo la microscopia electrónica han facilitado su observación.

Entre las inclusiones más constantes e importantes se describen:

a) Gránulos de polifosfatos, que son en realidad almacén de energía en los enlaces del polifosfato. Se tiñen, entre otros, con el azul de toluidina y se vuelven de color rojo-violeta. Este fenómeno de cambio de color (metacromasia) da nombre a las citadas inclusiones (gránulos metacromáticos), observadas frecuentemente en el género *Corynebacterium* (bacilo diftérico).

b) Otras bacterias acumulan como reserva la glucosa en forma de polímeros. El glucógeno se presenta en pequeños gránulos, que se ponen de manifiesto al tratar la célula con una solución de yodo y aparecer una coloración rojiza. A veces, la glucosa se deposita en forma de un polímero similar al almidón y da un color azul oscuro con el yodo.

c) Quizá, las más frecuentes sean las inclusiones a base de largos polímeros de ácido poli-β-hidroxibutírico. Se tiñen con colorantes liposolubles y al microscopio electrónico aparecen como áreas claras. Son reserva de carbono y energía.

d) Finalmente, hay bacterias que presentan gránulos de lípidos, azufre u otras sustancias y corresponden a especies de escaso o nulo interés médico.

TINCIONES BACTERIANAS

En general, las bacterias y otros microorganismos son transparentes, lo que dificulta su estudio cuando los exámenes se realizan en fresco. Por esta razón, cuando se quieren conocer los detalles morfológicos, es necesario recurrir a tinciones.

Aunque existen múltiples tipos de tinciones, vamos a referirnos aquí a los dos métodos de coloración especiales más comúnmente empleados en la práctica corriente: la tinción de Gram y la de Ziehl-Neelsen.

Tinción de Gram

Elaborada por Hans Christian Gram en 1884, es la más empleada en bacteriología. Permite diferenciar las bacterias, a veces, incluso cuando tienen igual forma y tamaño. Por otra razón es una «tinción diferencial».

Las etapas que se siguen se relacionan en la tabla 3-2.

Aunque no totalmente aclarada, la propiedad de la grampositividad depende de la naturaleza y composición química de la pared bacteriana, como lo prueba el hecho de que las bacterias grampositivas pierden esta propiedad cuando se elimina toda su pared o parte de ella.

Se han propuesto varias teorías para su explicación, pero la más aceptada es la que mantiene que las bacterias gramnegativas son más permeables al alcohol debido a su alto contenido en lípidos.

Cuando la bacteria se tiñe con el complejo colorante básico-mordiente, éste queda atrapado en las bacterias grampositivas y no puede ser arrastrado por el decolorante a causa de la naturaleza físico-química de su pared. Por el contrario, en las gramnegativas es arrastrado debido a su alto contenido lipídico.

Tinción de Ziehl-Neelsen

El fundamento de esta técnica diferencial, se basa en la propiedad de la ácido-alcohol resistencia de algunas bacterias del orden *Actinomycetales*, si bien no es privativa de ellas.

Estos microorganismos se consideran grampositivos, pero se colorean difícil e irregularmente, de ahí que se emplee este tipo de tinción (Ziehl-Neelsen) o su variante (Kinyoun). Ambas consiguen por el calor o aumentando el tiempo de contacto que la fucsina penetre profundamente y pueda resistir la acción decolorante de una solución de ácido-alcohol, apareciendo los bacilos de color rojo sobre un fondo azul (tabla 3-3).

Tabla 3-2. Etapas en la tinción de Gram

Pasos	Método	Resultados	
		Gram (+)	Gram (–)
Colorante básico	Violeta de genciana	Se tiñe de violeta	Se tiñe de violeta
Mordiente	Lugol	Permanece violeta	Permanece violeta
Decoloración	Alcohol de 95 % o alcohol-acetona	Permanece violeta	Se decolora
Contraste	Fucsina o safranina	Permanece violeta	Se tiñe de rosa

Tabla 3-3. Etapas en la tinción de Ziehl-Neelsen

Pasos	Método	Resultados	
		Acido-alcohol resistente	No ácido-alcohol resistente
Colorante básico	Fucsina	Se tiñe de rojo	Se tiñe de rojo
Mordiente	Calor	Permanece rojo	Permanece rojo
Decolorante	Alcohol-clorhídrico	Permanece rojo	Se decolora
Contraste	Azul de metileno	Permanece rojo	Se tiñe de azul

Se considera que la acidorresistencia es debida al alto contenido lipídico de estas bacterias, fundamentalmente fosfolípidos, ceras y ácidos micólicos. El complejo fucsina-fenol resiste la decoloración porque está muy ligado a los lípidos, ya que es más soluble en ellos que en el agente decolorante (alcohol-ácido).

Existen diferentes opiniones que señalan otras posibles causas, pues el papel de los ácidos micólicos está en entredicho al tratarse de un constituyente de la pared bacteriana, y si ésta se aísla por centrifugación y se purifica, no aparece como ácido-alcohol resistente. Quizá, la causa sea la formación de complejos estables entre la fucsina y algún componente bacteriano y el que este complejo se mantenga unido cuando se realiza una vigorosa decoloración, y lo más probable es la formación de un complejo estable de fucsina-ARN bacteriano.

BIBLIOGRAFIA

Archibald, A. R.: The structure, biosynthesis and function of teichoic acid. Adv. Microbiol. Phys., 11, 53-95, 1974.

Davis, B. D.: Bacterial structure and classification. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed. 17-30. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Freeman, B. A.: Burrows, Textbook of Microbiology, 21.ª ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1979.

Greenawalt, J. W., y Whiteside, T. L.: Mesosomes: Membranous bacterial organelles. Bacteriol. Rev., 39, 405-463, 1975.

Jawetz, E.; Melnick, J. L., y Adelberg, E. A.: Manual de Microbiología Médica, 9.ª ed. El Manual Moderno, México, 1981.

Leive, L. L., y Davis B. D.: Cell envelope; spores. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Loiseau-Marolleau, M. L.: Les bactéries: Anatomie fonctionnelle, physiologie, variabilité. En Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Maladies infectieuses et parasitaires. Editions Techniques, Paris, 8000 A^{10}, 1975.

Osborn, M. J., y WU, H. C. P.: Proteins of the outer membrane of Gram-negative bacteria. Ann. Rev. Microbiol., 34, 369-422, 1980.

Salton, M. R. J., y Owen, P.: Bacterial membrane structure. Ann. Rev. Microbiol., 30, 451-482, 1976.

Smith, A. L.: 1980. Microbiology and pathology. C. V. Mosby, Saint Louis, 1980.

Volk, W. A.: Essentials of Medical Microbiology. J. B. Lippincott, Philadelphia, 1978.

Wheat, R. W.: Bacterial morphology and ultrastructure. En Joklik, W. K.; Willet, H. P., y Amos, D. B. (dirs.): Zinsser, Microbiology, 17.ª ed., 26-45. Appleton-Century-Crofts, New York, 1980.

Capítulo 4

Estructura bacteriana (II)

José Angel García-Rodríguez

NUCLEO. ADN CROMOSOMICO Y EXTRACROMOSOMICO

NUCLEO BACTERIANO

Las estructuras nucleares bacterianas, aunque sospechadas, no se pudieron poner de manifiesto hasta el año 1930, en que Feulgen estableció un método específico de tinción para el ADN, que lleva su nombre. El conocimiento del núcleo bacteriano ha revolucionado conceptos básicos en biología al poderse explicar con más facilidad los procesos de regulación, de síntesis y genéticos, fenómenos que en las células superiores eran más difíciles de demostrar.

Dadas las profundas diferencias existentes entre procariotas y eucariotas, algunos autores han preferido denominarlo equivalente nuclear, cromosoma bacteriano o nucleoplasma, que hoy día no son más que sinónimos del verdadero núcleo bacteriano.

El estudio del núcleo bacteriano ha podido llevarse a cabo mediante diferentes técnicas de coloración, inmunoquímicas, de hibridación, etc., pero han sido la microscopia electrónica y la autorradiografía del ADN aislado las que han permitido conocer su estructura y disposición.

El ADN cromosómico se identifica con el concepto de cromosoma bacteriano, responsable de la información genética, dirección de la actividad y herencia celular. Las bacterias son haploides y la transmisión genética es lineal. A pesar de no existir mitosis como tal, cada célula hija recibe su propio patrimonio de información genética.

La situación, forma y tamaño varían extraordinariamente según la especie y sobre todo la fase de desarrollo en que se encuentre la bacteria: en los cocos, el núcleo tiende a disponerse como una masa redondeada central, en tanto que en los bacilos se sitúa en forma alargada y paralelo al eje mayor de la bacteria (fig. 4-1).

Morfología

Al comenzar la fase de división, el material nuclear tiende a disponerse transversalmente o en forma de V. Al estudiar cortes bacterianos al ME, se presenta sin una delimitación clara al no poseer membrana nuclear. Presenta un aspecto fibrillar a base de finos filamentos, enmarañados unas veces, dispuestos en haces estratificados otras o con aspecto granuloso, según la zona donde se haya efectuado el corte.

Existe una relación del núcleo con la membrana citoplásmica, bien directamente o por medio de mesosomas.

Composición y estructura

Ya se ha señalado que, en cortes celulares al ME, muestra una estructura filamentosa apelotonada de un único filamento de ADN, que una vez aislado y desplegado aparece de forma circular. Es difícil obtener ADN puro, pues siempre va acompañado de ARN y ARN-polimerasa, que posiblemente sean los responsables del aspecto compacto que presenta el núcleo, ya que el tratamiento con ribonucleasa le confiere una consistencia más laxa.

Cuando se le somete a una hidrólisis completa, se obtiene: ácido fosfórico, pentosas y bases púricas y pirimidínicas. A diferencia de los cromosomas de las células superiores, no contiene histonas. A pesar de representar sólo el 2 al 3 % del peso en seco de la bacteria, ocupa alrededor del 10 % del volumen bacteriano.

Fig. 4-1. Microfotografía electrónica de bacterias mostrando en su interior el núcleo.

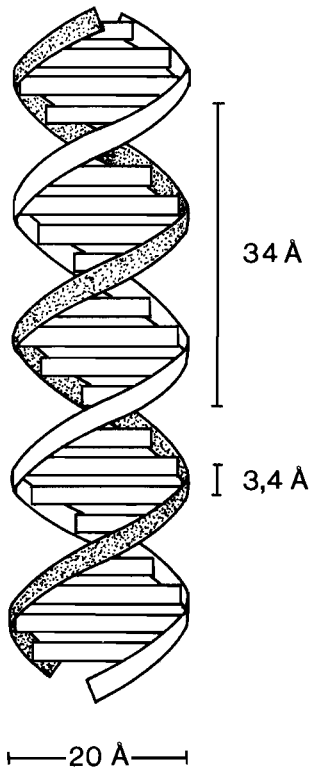


Fig. 4-2. Modelo de ADN según Watson y Crick. Se representa como una doble hélice de estructura tridimensional, hélices que se disponen en torno a un eje de 2 nm de diámetro.

La estructura del ADN fue puesta de manifiesto por Watson y Crick en 1953, y esquemáticamente se representa como una doble hélice de estructura tridimensional (fig. 4-2). El diámetro es de 2 nm y la abertura entre dos espiras consecutivas es de 3,4 nm. Dado que en cada vuelta del hélix se hallan 10 nucleótidos, la distancia entre dos bases consecutivas es de 3,4 decinanómetros. Su longitud (desarrollado) puede ser superior a 1 mm y el peso molecular se aproxima a los 3×10^9 daltons. Está formado por dos cadenas de polinucleótidos compuestos de mononucleótidos unidos entre sí por moléculas de ortofosfato. Cada una de estas moléculas esterifica, por un lado, la desoxirribosa de un nucleótido en posición 5′ y, por el otro, el azúcar del nucleótido siguiente en posición 3′. Las bases del ADN bacteriano son de dos tipos: púricas (adenina, guanina) y pirimidínicas (timina, citosina). Las cadenas tienen polaridades opuestas, pues frente al tipo de unión fosfato-3′desoxirribosa se encuentra una unión en posición 5′, y el ensamblaje entre las dos cadenas se realiza por puentes de hidrógeno que, dada la disposición espacial tan peculiar, se establece entre adenina-timina y entre guanina-citosina en los dos sentidos posibles (AT o TA) (CG o GC). Es decir, que frente a una fracción de la cadena, por ejemplo, G-C-C-A-T-A-C-G tiene que hallarse una hebra C-G-G-T-A-T-G-C (fig. 4-3).

La doble cadena permite explicar la autorreplicación (como se verá después), la reparación de un segmento lesionado por eliminación de éste y sustitución con una pieza copiada de un segmento «sano», y la formación del ARN mensajero. Las dos cadenas, pues, de una molécula de ADN contienen información idéntica.

Replicación del ADN

El ADN se autorreproduce según un mecanismo semiconservador. Las cadenas complementarias se separan y actúan cada una de ellas como un molde sobre el que se van polimerizando subunidades de nucleótidos hasta dar lugar a una cadena complementaria. Las posibilidades de formación de puentes de hidrógeno condicionan inevitablemente

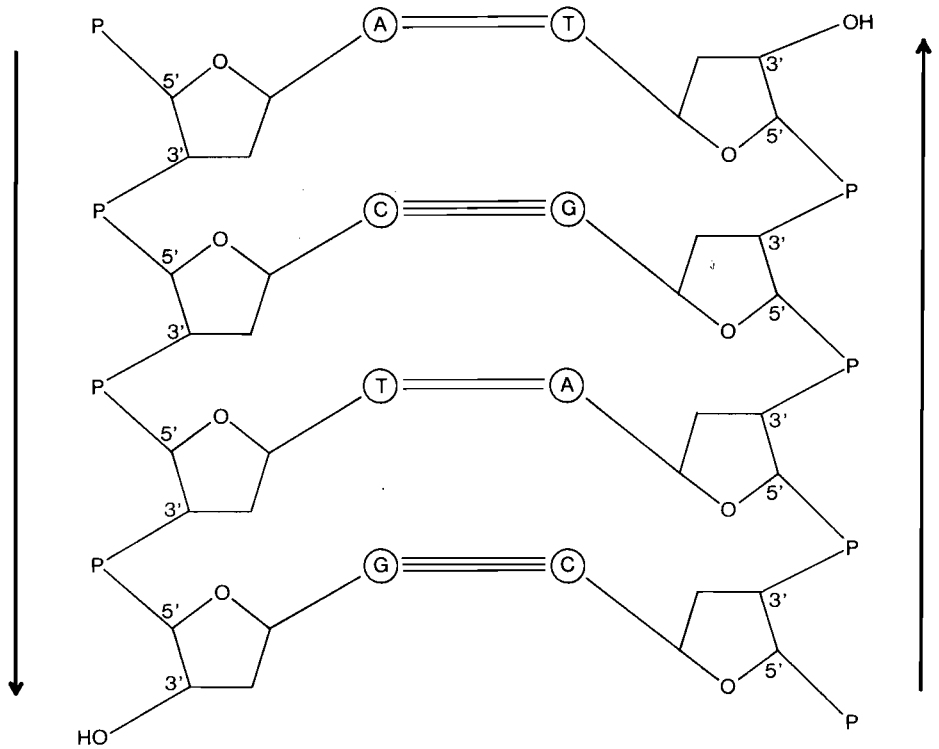


Fig. 4-3. Secuencia y apareamiento de bases del ADN. Los dos filamentos se unen mediante puentes de hidrógeno entre las bases próximas. Estos puentes sólo pueden establecerse entre adenina y timina, por un lado, y guanina y citosina, por el otro. En la figura se observan las polaridades opuestas, 5′ frente a 3′, y a la inversa.

el orden de sucesión de bases de la nueva cadena. Por ejemplo, sobre la timina de la cadena molde se situará invariablemente la adenina y se producirán en definitiva dos nuevas hélices dobles idénticas a la original (fig. 4-4).

Por autorradiografía (utilizando timina tritiada) se ha demostrado que la replicación del ADN lineal comienza en un extremo y termina en el opuesto. La replicación de las moléculas circulares termina en el punto donde se inició.

Jacob y Brenner y Cuzin, en 1963, formularon una teoría, que es la más aceptada en el momento presente, según la cual el cromosoma es una unidad de replicación (replicón), de estructura circular, y sería portador de dos determinantes genéticos específicos: el autoduplicador y el iniciador. El autoduplicador o replicador, que probablemente contenga la ADN-polimerasa, señala el punto de inicio de la duplicación. La sustancia o sistema conocido con el nombre de iniciador es el encargado de informar al autoduplicador para que comience la replicación.

Esta hipótesis supone que el autoduplicador actúa como pivote fijo en un sitio específico de la membrana bacteriana sobre el que gira el cromosoma.

Se ha comprobado que el núcleo bacteriano está unido a la membrana mediante uno o varios mesosomas. La duplicación del ADN por la polimerasa implica la apertura de la doble hélice por rotura de los puentes de hidrógeno y la separación de las dos cadenas, de forma que cada una de ellas sirve de modelo para la síntesis de otra cadena de polinucleótidos de estructura complementaria. Esto se produce mediante el giro del cromosoma sobre el punto de unión que le suministra el mesosoma en el que se inserta. Terminada esta duplicación, los dos cromosomas se separan dividiendo el mesosoma sobre el que asientan.

Se trata de un mecanismo que asegura al mismo tiempo la división bacteriana, mediante la formación de septos, y la partición del núcleo y que se estudiará con más detalle en el capítulo de división bacteriana (fig. 4-5).

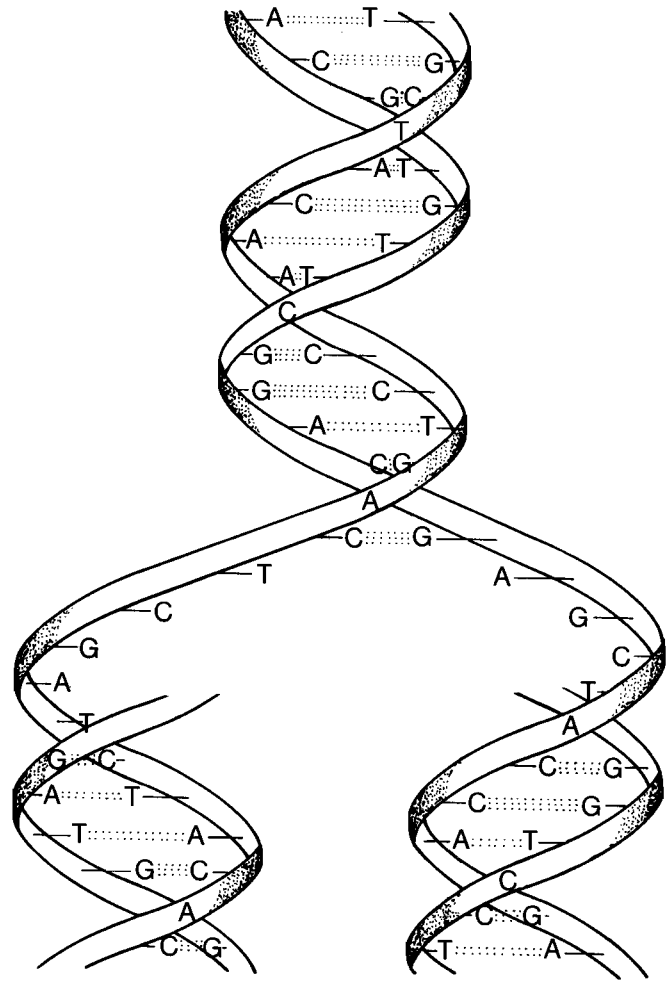


Fig. 4-4. Esquema que muestra la duplicación del ADN. Cada tira de ADN sirve posteriormente de modelo para la síntesis de una nueva tira complementaria.

Funciones

1. El ADN cromosómico confiere a la bacteria sus *peculiaridades genéticas*. El cromosoma se subdivide en segmentos situados en determinados *loci*, que actúan como unidades genéticas funcionales (genes). Cada gen determina la secuencia de bases y, por tanto, la estructura proteica. En este aserto se basa el concepto de clave genética.

La transcripción de la secuencia de bases del ADN a una cadena complementaria origina el ARN mensajero. La información del ARNm es después traducida a la secuencia de aminoácidos de la proteína, donde radica su especificidad.

La información genética del ARNm está en clave o codificada, de forma que 4 bases púricas y pirimidínicas (adenina, citosina, guanina y uracilo) constituyen el ARNm. El orden de agrupación de estas bases determinará cada uno de los 20 aminoácidos encontrados habitualmente en las proteínas.

El código genético podría determinarse mediante tres tipos de relación posible: si cada base se tradujera en un aminoácido, sólo podrían codificarse 4^1 aminoácidos; sería la llamada «clave de unidades». Si fueran dos las bases que conjuntamente determinasen un aminoácido, las combinaciones posibles serían $4^2 = 16$ aminoácidos («clave de parejas»), lo que sería insuficiente puesto que existen 20 aminoácidos. Sería preciso al menos que las cuatro bases diferentes se ensamblaran de 3 en 3, con lo que se obtendría $4^3 = 64$ combinaciones, aminoácidos, posibles («clave de tripletes»). Por tanto, la clave mínima debería ser de tripletes de bases del ARNm, lo que se denomina «codón» (clave para 1 aminoácido). «Anticodón» sería el triplete de bases del ARNt, complementario al del codón. El interés radica en que un solo aminoácido puede ser codificado po varios tripletes de bases diferentes, puesto que, si hay 6 combinaciones posibles de las 4 bases y sólo se necesitan codificar 20 aminoácidos, sobran 44 combinaciones sin significado aparente, pero que pueden funcionar como «signos» de puntuación en la terminación o comienzo de la codificación de una proteína específica por parte del gen. Se han conocido recientemente tres tripletes, que se denominan «ámbar» (UAG), «ópalo» (UGA) y «ocre» (UAA), no codifican aminoácido alguno y se han denominado como codones sin sentido. Hay que puntualizar que un gen determina un solo polipéptido, y los diferentes polipéptidos se ordenan después para formar la molécula funcional de proteínas, a diferencia de la hipótesis clásica de: un gen = una proteína.

La clave genética se ha determinado por completo en algunas bacterias, como *E. coli*, y se ha llegado a concluir que

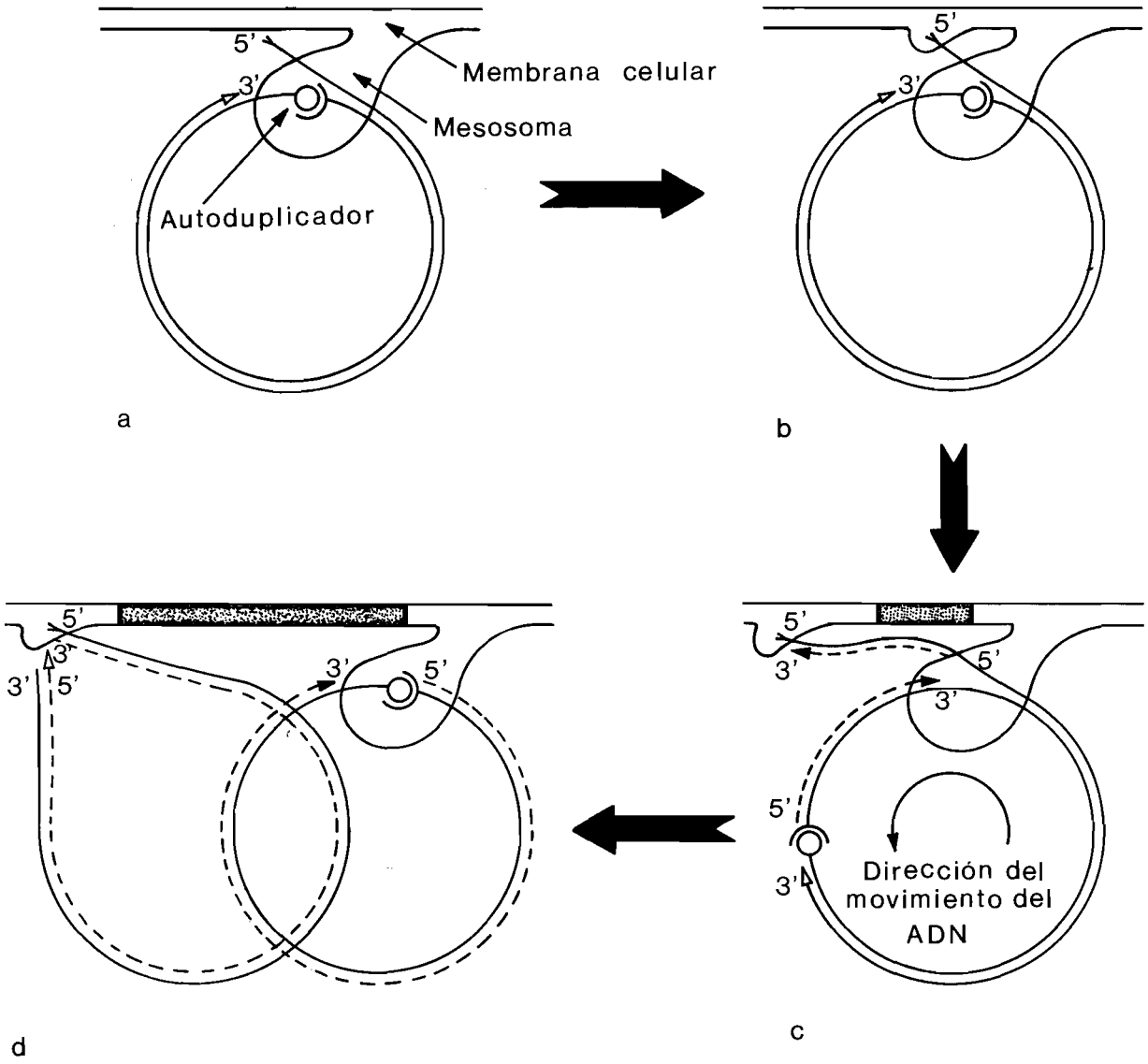


Fig. 4-5. Replicación del ADN de acuerdo con la teoría formulada por Jacob, Brenner y Cuzin: *a)* El cromosoma se une a la membrana por un mesosoma, donde se halla el autoduplicador que le sirve de pivote giratorio y donde se observa cómo uno de los filamentos aparece fragmentado. *b)* El extremo 5′ de la tira fragmentada se inserta en otra zona próxima de la membrana citoplásmica, posiblemente otro mesosoma. *c)* El ADN gira en sentido contrario a las agujas del reloj sobre los puntos de unión. Aparecen filamentos recién sintetizados (en discontinuo en la figura). Los pivotes o lugares de inserción aparecen separados por una zona de membrana recientemente sintetizada y que aparece en oscuro en la figura. *d)* La replicación se ha completado y finalizado por la unión de los extremos libres de las tiras del nuevo cromosoma.

con toda probabilidad sea la misma en los seres superiores y el hombre. Se trataría, pues, de una clave universal, con la importancia que en la historia de la evolución esto representa.

Como aplicación de lo tratado hasta aquí se deduce que la localización de los genes en el cromosoma permite establecer y fijar el mapa genético. Este mapa se logra por el estudio de las recombinaciones genéticas entre diferentes tipos de mutantes y viene a ser algo así como el plano o esquema de este procesador natural que es el ADN.

Se ha establecido que la composición en bases del ADN se expresa mediante el porcentaje molar de guanina-citosina del total. Si el contenido, por ejemplo, de G-C es del 50 %, el de adenina-timina (A-T) será también del 50 %, que completaría el 100 %. Esta complementariedad es de gran utilidad para el estudio del parentesco bacteriano y delimitar las distintas especies. Las bacterias pertenecientes a la misma especie tienen idéntico G + C %. La relación $\frac{A+T}{G+C}$ o coeficiente de Chargaff constituye, por tanto, un elemento de comparación entre el ADN de las bacterias.

A pesar de ser un método fiable para identificación y taxonomía, no tiene en cuenta la polaridad en las parejas A-T y G-C, y que una simple inversión de esta polaridad puede cambiar la constitución genética. Así, bacterias que tienen idéntico G + C % pueden tener diferencias genéticas importantes. De aquí el interés de recurrir al método de hibridación entre ADN de las bacterias, para precisar el grado de parentesco genético.

Se trata de un método que permite una discriminación más precisa que el coeficiente G + C %. Posibilita, además, establecer líneas filogenéticas entre las especies bacteria-

nas. El porcentaje de hibridación entre 2 ADN heterólogos es tanto más débil, cuanto más alejados están en su relación filogenética, y al revés.

2. Interviene en los mecanismos de *transferencia genética*. Como portador de la información genética, es la estructura encargada de transmitir hereditariamente los caracteres peculiares de la especie a las células hijas. Avery y cols., en 1944, describieron *in vitro* el fenómeno de la «transformación» en la especie *S. pneumoniae*, lo que permitió por primera vez conocer el papel del ADN en la transmisión de los caracteres hereditarios.

3. La intervención del ADN en la *división bacteriana* se inicia con la autoduplicación, induciendo simultáneamente una serie de cambios que conducen a la división.

4. Regula la *síntesis proteica*. Los mecanismos de la síntesis proteica son bien conocidos en la actualidad. Se sabe que la bacteria porta un cromosoma capaz de codificar hasta 4.000 cadenas polipeptídicas diferentes, cuya síntesis requiere la formación inicial de ARN a partir del ADN cromosómico, mediante la actuación de una enzima denominada ARN-polimerasa, en un proceso conocido como «transcripción».

Son tres, los tipos de ARN citoplásmico que se forman:

a) El ácido ribonucleico mensajero (ARNm) lleva el mensaje genético que codifica la producción de las distintas proteínas necesarias para la vida bacteriana. Esta información es recogida en tripletes de bases (codones).

b) El ácido ribonucleico ribosómico (ARNr) es el encargado de la traducción del mensaje del ARNm y el lugar donde se lleva a cabo la síntesis de aminoácidos. Consta de dos subunidades que normalmente están separadas y, de acuerdo con su constante de sedimentación, se denominan 50S y 30S. Existen dos lugares funcionales: aminoacil o aceptor donde se unen los aminoácidos y peptidil o dador (fig. 4-6).

c) El ácido ribonucleico de transferencia (ARNt) es el encargado de transportar los aminoácidos necesarios al ribosoma para realizar la síntesis proteica. Consta de un extremo, donde existe un triplete de bases, complementario a los distintos codones (anticodón). De esta forma, existen tantos tipos de ARNt como aminoácidos. En otro de sus extremos se une específicamente un aminoácido, que será distinto según el triplete de anticodón.

El proceso de la síntesis proteica consta de tres fases: iniciación, elongación y terminación.

a) La *iniciación* (fig. 4-7) comienza con la disociación del ribosoma 70S en sus unidades 30S y 50S. Luego, la subunidad 30S se une con el ARNm. El aminoácido que comienza la síntesis, la formilmetionina (fMet), se une a su ARNt correspondiente. Ambas sustancias se agrupan formando el complejo de iniciación. Posteriormente se acopla el ribosoma 50S y se forma el 70S funcionante.

b) La *elongación* (fig. 4-8) se compone de una serie de estadios repetitivos, que son el reconocimiento, transferencia y translocación. Reconocimiento: al ribosoma 70S con fMet y su correspondiente ARNt se une un nuevo aminoácido con su ARNt en el lugar A, determinado por el codón del ARNm. Transferencia: mediante este proceso, el primer aminoácido (fMet) se une al segundo y se inicia la cadena peptídica. Translocación: el ribosoma se mueve para leer el mensaje de otro codón; en este proceso, la cadena peptídica pasa al lugar P; queda libre el ARNt que vehiculaba la fMet, y el lugar A queda vacante para ser ocupado por otro ARNt con su aminoácido.

Estos pasos se repiten sucesivamente de forma continuada hasta completar la síntesis.

c) Terminación (fig. 4-9). El proceso termina en el lugar del ARNm, donde existe uno de estos tripletes (codones), UAA, UAG, UGA, para los que normalmente no existe un ARNt correspondiente (y por ello aminoácidos), y también gracias a la intervención de factores de terminación. Al final quedan libres el polipéptido, el último ARNt, el ribosoma 70S y el ARNm.

La síntesis de proteínas y de otros elementos que la bacteria necesita se produce por un mecanismo de autorregulación. Dicho mecanismo determina la concentración de proteínas intracelulares, merced a metabolitos que favorecen el

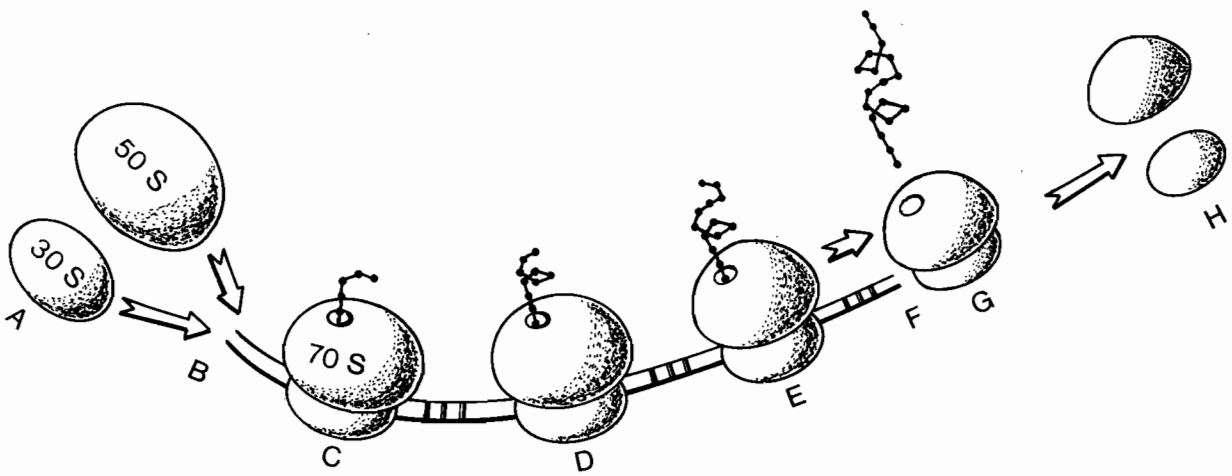


Fig. 4-6. Formación de los polirribosomas y síntesis proteica: A) Subunidades ribosómicas 30S y 50S que se van a unir formando un ribosoma (70S), cada uno de los cuales va a formar una cadena de polipéptidos, a medida que se desplazan sobre la molécula de ARNm; B) extremo 5'; C, D y E) cadenas de polipéptidos en desarrollo; F) terminal 3'; G) finalización de la síntesis completa de la cadena de polipéptidos; H) subunidades ribosómicas salientes.

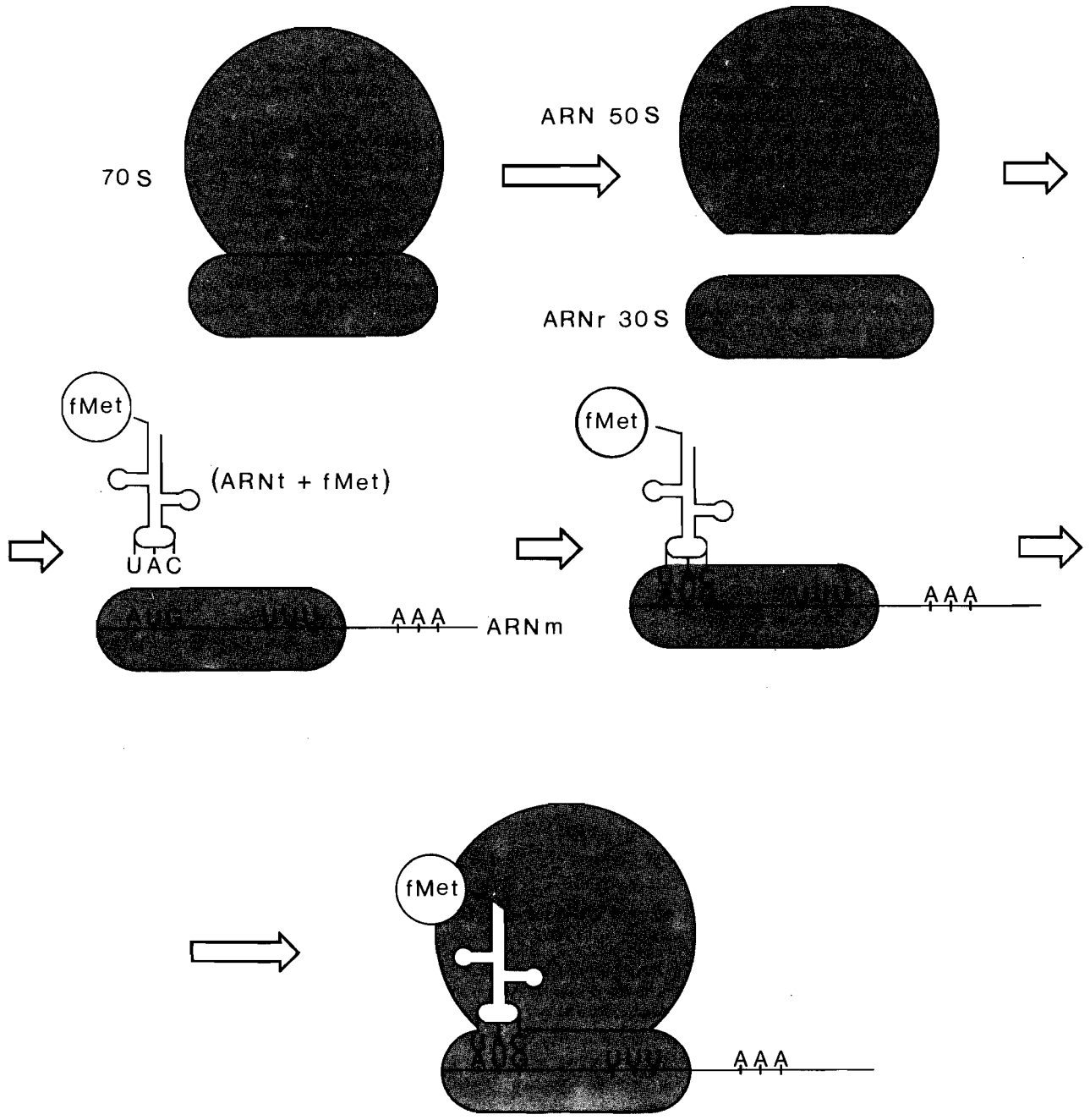


Fig. 4-7. Síntesis proteica. Fase de iniciación (explicación en el texto).

incremento (proteínas activadoras) o la disminución (proteínas represoras).

Se trata de un sistema bifuncional que determina en cada momento lo que la célula necesita, con objeto de evitar una acumulación o un gasto de energía muy grande, es decir, no todas las proteínas se producen simultáneamente debido a que algunas sólo son requeridas en determinadas condiciones ambientales (fig. 4-10).

Esta inducción o represión presentan en esencia un mismo mecanismo, el cual es la inhibición de la síntesis del ARNm por acción de las proteínas represoras, que se encuentran a su vez reguladas por pequeñas moléculas específicas, conocidas como inductores y represores.

El ejemplo más conocido y que sirve de modelo para explicar estos fenómenos es el de la enzima β-galactosidasa, que cataliza la disociación de la lactosa en glucosa y galactosa, y se produce cuando la lactosa está presente en el medio de cultivo.

Se le da el nombre de «operón» a un grupo de genes, controlados por el mismo operador y que intervienen en el me-

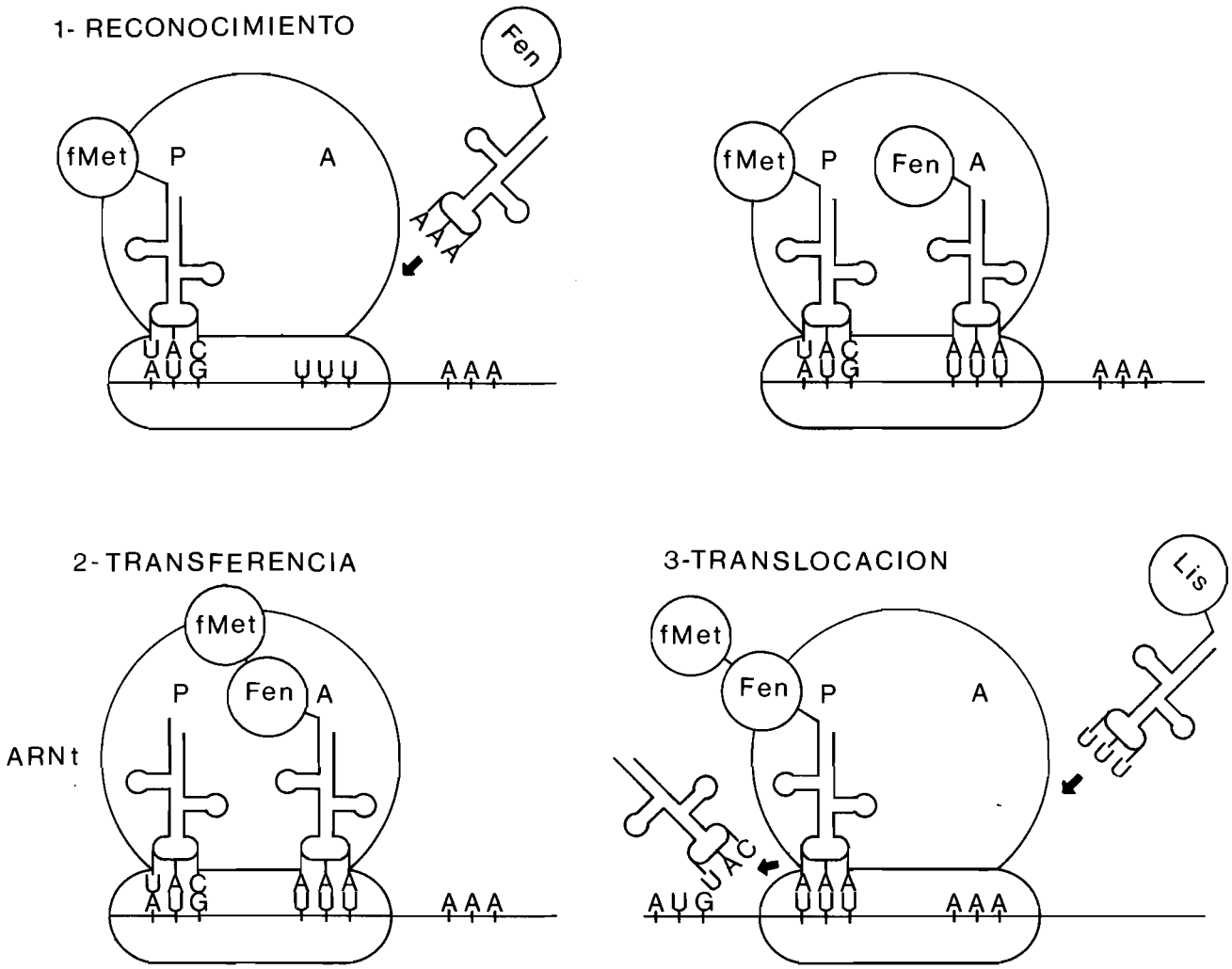


Fig. 4-8. Síntesis proteica. Fase de elongación.

tabolismo de un determinado producto. En el caso referido, el operón de la lactosa tiene cuatro componentes:

a) Los denominados *genes estructurales* (β-galactosidasa, permeasas y transacetilasa), que, por un lado, degradan la lactosa a glucosa y galactosa y, por otro, transportan la lactosa a través de la membrana celular.

b) El *operador*, que controla la transcripción de los genes estructurales. Cuando la lactosa no se halla presente en el medio, no es preciso su utilización, y, en consecuencia, se produce la represión de los genes estructurales debido a la unión de la proteína represora con el operador.

c) El *promotor* es necesario para la iniciación de la transcripción. Se sitúa por fuera del gen operador y es la zona de asiento de la RNA-polimerasa y de un catabolito activador proteico, que estimula la formación del ARNm.

d) El gen regulador está lejos de la zona de influencia del operón y es el portador de la información para la producción de la proteína represora.

En definitiva y como se representa en la figura 4-10, en ausencia de lactosa en el medio se sintetiza la proteína represora, que neutraliza el operador, y, por tanto, no se produce la transcripción de los genes estructurales. En presencia de lactosa, el represor se inactiva y, por tanto, se produce la transcripción y la catabolización de la lactosa.

5. Es el sitio de acción de diferentes agentes antimicrobianos, como el ácido nalidíxico, rifampicina, etc.

6. El ADN cromosómico es, en definitiva, el sustrato de toda mutación. Toda modificación en la secuencia de nucleótidos de un gen se transmite hereditariamente.

ADN EXTRACROMOSOMICO

Se considera como tal una serie de moléculas facultativas, no esenciales para la bacteria, que se replican independientemente del cromosoma bacteriano. Se transmiten por herencia a las células hijas, son portadores de genes con una gran función biológica, pero no fundamental, para la vida bacteriana y, por último, pueden ser capaces de transmitirse de una bacteria a otra por conjugación (sin intermediarios), como sucede con otros fenómenos de recombinación genética.

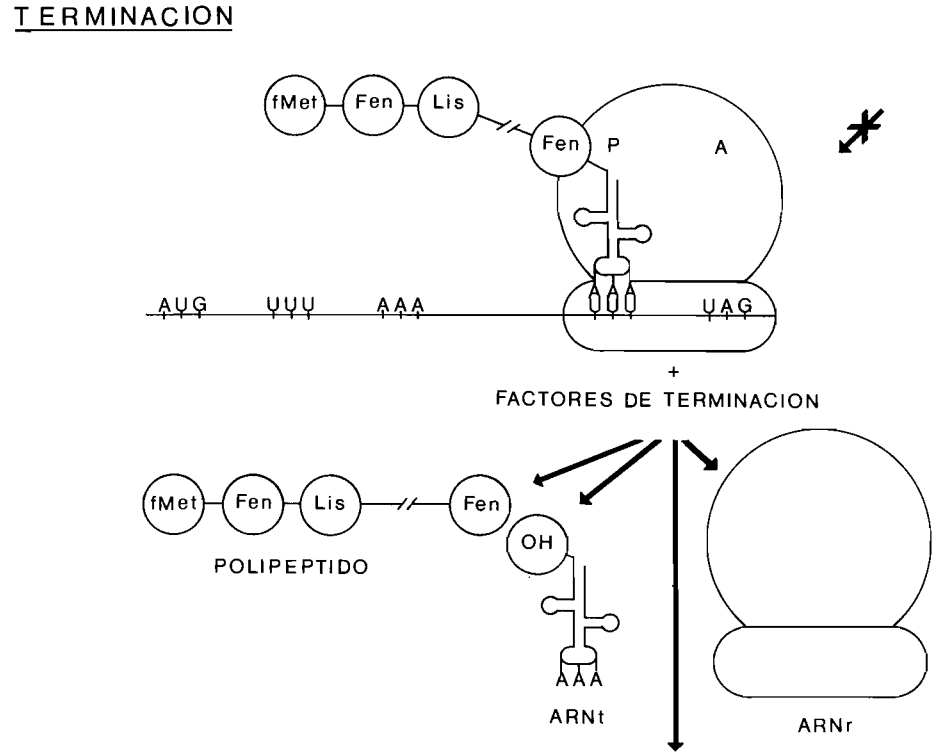
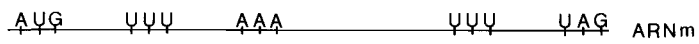


Fig. 4-9. Síntesis proteica. Fase de terminación.



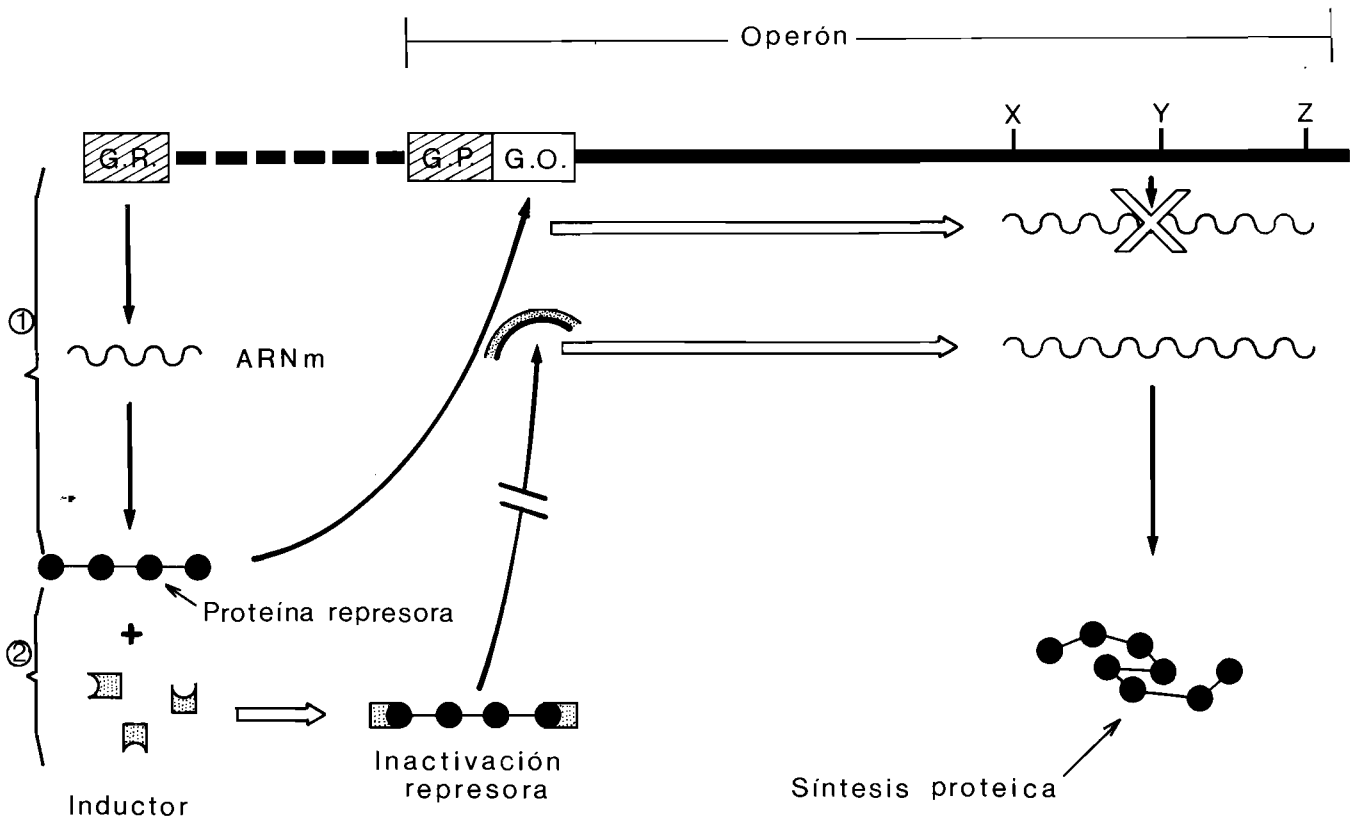


Fig. 4-10. Regulación genética de la síntesis proteica (G.R., gen regulador; G.P., gen promotor; G.O., gen operador; XYZ, genes estructurales). 1) El resultado del gen regulador, la proteína represora, impide el funcionamiento del operón al enlazarse con el operador. Los genes estructurales no pueden ser transcritos debido a la ausencia del inductor (lactosa). 2) La proteína represora se inactiva en presencia de lactosa que actúa como inductor. En consecuencia, los genes estructurales se transcriben, se produce la síntesis enzimática y la lactosa se cataboliza.

El primer elemento extracromosómico encontrado fue en *E. coli* K_{12} y se denominó factor sexual F (factor de fertilidad), que tiene la capacidad de autorreplicarse y de integrarse en el cromosoma. Estas partículas con doble posibilidad se han venido denominando «episomas». Pero dado que cada vez se encuentran más elementos extracromosómicos que en un momento dado pueden integrarse en el cromosoma, la tendencia actual es denominar como «plásmidos» a todas las estructuras de ADN extracromosómico, cualquiera que sea su capacidad de inserción en el cromosoma.

Este ADN ha podido conocerse mejor mediante procedimientos físicos de aislamiento (centrifugación en gradientes de densidad, electroforesis vertical sobre gel de agarosa, cromatografía líquida de alta presión o por microscopia electrónica) y por métodos genéticos.

Propiedades físicas y funcionales

Forma y tamaño

Los plásmidos aparecen en la bacteria en estado de reposo como moléculas circulares de ADN bicatenario.

Este ADN es de 100 a 1.000 veces más pequeño que el del cromosoma (PM de 3×10^6 a 100×10^6 daltons), lo que explica el que en una misma bacteria puedan coexistir varios plásmidos independientes o conectados. Su estructura es helicoidal y superenrollada, y parece como si los dos extremos de la doble hélice estuvieran retorcidos antes de ser covalentemente engarzados. La cifra de vueltas de la espiral depende del número de bases, normalmente una por cada 400-600 pares de bases ($1{,}7\text{-}2{,}5 \times 10^5$ daltons). Esta conformación entrelazada es conocida como «círculo cerrado covalente» (ccc) de ADN.

Replicación

Son unidades autorreplicables (replicones) e independientes de la replicación cromosómica. Unos dan lugar a una sola copia de ADN, pero los hay que originan varias copias. Como en la replicación cromosómica, desempeña un papel importante la unión a un punto específico de la membrana citoplásmica. La competición entre plásmidos emparentados por una misma posición en la membrana explica el concepto de incompatibilidad que sirve de base para su clasificación. Además, la membrana podría regular en parte la replicación y segregación de los plásmidos durante la división celular.

Curación

Ya se ha señalado que las funciones esenciales de una célula están codificadas por genes cromosómicos. Las funciones codificadas por plásmidos son adicionales y darán a la célula huésped una supervivencia o una ventaja en el crecimiento, en particulares condiciones ambientales. Por ejemplo, los plásmidos R confieren a las células que los poseen capacidad de desarrollarse en presencia de concentraciones letales de antibióticos.

Simultáneamente con la división celular sobreviene en la mayoría de los plásmidos la replicación para su transmisión a las células hijas, pero en algunos casos existe una pérdida espontánea o inducida de aquéllos (curación), probablemente como resultado de un defecto de su replicación. Este es a veces el primer indicio para determinar la especificidad del plásmido y la naturaleza del carácter que confiere. Las pérdidas espontáneas suelen ser frecuentes, pero en condiciones experimentales se puede incrementar aquélla. El método más común es realizar un cultivo en presencia de diferentes sustancias químicas que promuevan una alta frecuencia de curación, como la tintura de acridina, bromuro de etidio, mitomicina C y rifampicina, al actuar sólo sobre el ADN cromosómico.

Transferencia por conjugación

Algunos de los plásmidos más grandes, de PM superior a 20×10^6, transportan genes que facilitan a la célula huésped la transferencia del plásmido por conjugación, es decir, el paso de material genético no cromosómico de una bacteria a otra por contacto (fig. 4-12). Plásmidos con peso molecular inferior no son los suficientemente grandes para transportar los genes necesarios y codificar la transmisión por conjugación (plásmidos no conjugantes).

Movilización

Tiene lugar en las bacterias gramnegativas, portadoras simultáneamente de dos plásmidos, uno que es autotransferible y el otro no conjugante. El primero, en la mayoría de las ocasiones debido a que ambos están integrados, moviliza el segundo.

Para la movilización de plásmidos no conjugantes, es decir, para lograr transferirlos a otra bacteria, se precisan diferentes elementos: primero, una cepa donadora que posea el factor de transferencia (pD); segundo, otra cepa intermediaria portadora de un plásmido no conjugante (pI) con un fenotipo seleccionable (p. ej., la resistencia a un determinado antibiótico), y por último es necesaria una bacteria receptora.

Este procedimiento de crossing-over facilita la transferencia de un supuesto plásmido, en principio incapaz de transferirse. Se emplea, además, para determinar qué cepas donadoras portan un factor de transferencia capaz de movilizar un plásmido conjugante conocido.

Incluso el mismo cromosoma bacteriano puede movilizarse si se integra en un plásmido autotransferible.

Los plásmidos no conjugantes pueden transferirse mediante transducción por un fago, como en el caso de los plásmidos de estafilococos.

Recombinación

Los plásmidos pueden recombinarse bien con el ADN cromosómico o bien con otros plásmidos mediante un mecanismo de crossing-over. La integración produce un cambio de los genes plasmídicos respecto a la situación que presentaban en el estado vegetativo original. Esta recombinación, entre unidades de ADN cromosómico y plasmídico, está controlada por enzimas del tipo de las recombinasas y de las integrasas. La integración es más o menos estable, y en

ocasiones durante la división celular por defectos en la replicación o en la segregación se pierde el plásmido y con él los atributos que codificaba. Así sucede en ocasiones con las bacterias entéricas portadoras de plásmidos, que condicionan la resistencia a varios antibióticos.

Tipos y funciones de los plásmidos bacterianos

Se clasifican sobre todo en orden a los caracteres que expresan y se designan por estas propiedades:

Factores sexuales

Son plásmidos autotransferibles, responsables de la transferencia de genes cromosómicos por conjugación y que codifican la producción de *pili* sexuales F. La transmisión de material cromosómico puede demostrarse colocando una donante prototrofa portadora de un plásmido F con una receptora auxotrofa. Si los genes cromosómicos se transfieren, la auxotrofa pasa a prototrofa (cap. 7).

El factor sexual más importante y mejor estudiado es el factor F o de la fertilidad, hallado en *E. coli* K_{12}. Las bacterias portadoras de este plásmido se llaman bacterias F^+ y las no portadoras, F^-. El plásmido F puede estar libre en el citoplasma o integrado en el cromosoma bacteriano. Las bacterias que portan un plásmido integrado se llaman bacterias Hfr (de alta frecuencia de recombinación).

Factores de resistencia (plásmido R) (fig. 4-11)

Son responsables de la resistencia de ciertas bacterias, gramnegativas, a uno o más antibióticos por un mecanismo diferente al producido por mutaciones cromosómicas. Esta resistencia se adquiere por promover la elaboración de una enzima degradante o modificante (β-lactamasa y antibióticos β-lactánicos, transferasas y aminoglicósidos).

Están formados por dos componentes, denominados, respectivamente, «factor de transferencia» de la resistencia (FTR), que porta los genes que gobiernan el proceso de transferencia, y los «determinantes r», que conllevan genes responsables de la síntesis de las enzimas mencionadas antes. Aunque raras, pueden existir bacterias portadoras solamente del FTR sin traducción posible, pues lo normal es que existan unidas al menos con un determinante r, donde cada uno de ellos es responsable de la resistencia a uno o más antibióticos y, por otra parte, no puede transmitirse de forma autónoma y precisa su unión con el FTR.

Fueron descubiertos en Japón hacia 1950 en el curso de una epidemia de disentería bacilar por shigelas. Una de las primeras manifestaciones de la naturaleza extracromosómica de la resistencia fue el observar que diversas cepas de *E. coli*, de los pacientes que portaban shigelas resistentes, eran asimismo insensibles a los antibióticos probados.

Como consecuencia se derivaron dos hechos: primero, pueden transmitirse estos factores R por la flora no patógena del intestino y, segundo, estos patógenos adquieran fácilmente la resistencia en el curso de epidemias.

El uso intensivo e indiscriminado de antibióticos selecciona la población resistente de la flora normal, la cual puede transferir sus plásmidos R a algún patógeno. Los antibióticos facilitan esta transferencia, porque facilitan un medio ambiente en el que sólo las bacterias resistentes a los fármacos pueden desarrollarse. Destruyen la mayor parte de la flora normal del intestino y aumentan su capacidad de invasión por otras bacterias. Provocan ambientes de pH y oxigenación en el interior del intestino, favorables a una mayor frecuencia de conjugación y transmisión de plásmidos.

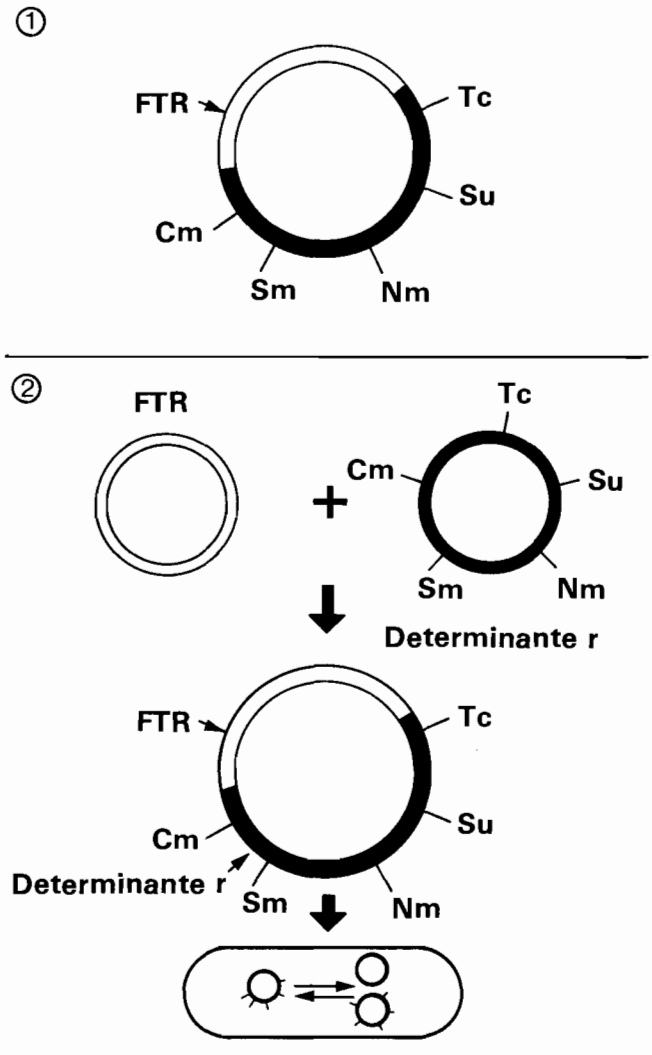


Fig. 4-11. 1 y 2) Modelo de plásmidos portadores de resistencia a los antibióticos (plásmido R-100). Tc, tetraciclina; Su, sulfamidas; Nm, neomicina; Sm, estreptomicina; Cm, cloranfenicol; FTR, factor de transferencia de la resistencia. Explicación en el texto.

Como estas condiciones de selección se dan con mayor frecuencia en los hospitales, la adquisición de plásmidos por bacterias, como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *Klebsiella* y *Proteus*, al tratarse de especies muy abundantes, plantean problemas epidemiológicos graves.

Los plásmidos R de bacterias multirresistentes se han encontrado en dos formas «cointegrados» y «agregados».

En los plásmidos cointegrados, todos los genes de resistencia, conjuntamente con los genes necesarios para transferirse, están covalentemente unidos en una molécula circular simple. Un ejemplo de plásmido cointegrado es el R100 (Cm, Sm, Nm, Su, Tc) aislado de *Shigella flexneri* por Watanabe en una epidemia de disentería en Japón.

En los plásmidos agregados, que se forman por asociación, los distintos genes residen al menos durante una mínima parte de tiempo en moléculas separadas. Durante la conjugación o en la curación, los determinantes se segregan independientemente y pueden aislarse en plásmidos de diferente tamaño a partir de la cepa huésped. Los estadios de plásmidos cointegrados y agregados no son más que los extremos de un espectro continuo de asociación, que es variable.

Plásmidos determinantes de la patogenicidad en los mamíferos

A pesar de que numerosas especies de los géneros *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio* son los más importantes microorganismos involucrados en afecciones entéricas, muchas infecciones diarreicas son causadas por enterobacterias consideradas normalmente flora habitual, especialmente *E. coli*.

Las infecciones por *E. coli* son particularmente peligrosas en los primeros meses de edad en diferentes especies animales y se han aislado tres tipos de plásmidos de cepas obtenidas del hombre, bóvidos y suidos:

Plásmidos «Ent». Codifican la síntesis de las enterotoxinas. Todos los plásmidos estudiados son responsables de la producción de toxinas ST (toxinas termoestables) solas o de toxinas ST y LT (toxinas termolábiles) conjuntamente. Sin embargo, todavía no se han descrito plásmidos responsables de producir toxinas LT solamente.

Plásmidos «Inv». Plásmidos de 120-140 Mdals responsables de la capacidad de penetración en las células epiteliales del intestino, en las bacterias enteroinvasivas (*Shigella*, *E. coli*).

Plásmidos «Hly». Son específicos en la producción de α-hemolisinas, que causan la lisis de los hematíes. Hasta el momento presente no se conoce su modo de acción ni la naturaleza molecular.

Plásmidos «K». Son responsables de la producción de antígenos en la superficie celular de *E. coli*, antígenos que pueden ser detectados por reacción con sueros específicos. Los antígenos son específicos de especie.

Factores Col

Algunas bacterias producen compuestos similares a los antibióticos, las bacteriocinas, que son proteínas letales para otras bacterias del mismo género o semejantes. Las bacteriocinas se denominan de acuerdo con las bacterias de las que proceden: colicinas (de *E. coli*), marcescinas (de *Serratia marcescens*), piocinas (de *Pseudomonas aeruginosa*), pesticinas (de *Yersinia pestis*), etc., y son invariablemente mediadas por plásmidos. Las más estudiadas son las de *E. coli*, que han sido divididas en grupos, conocidos con las siglas Col B, Col E, Col E_2, Col I y Col V. De ellos, los plásmidos Col I, Col B y Col V son portadores al mismo tiempo de un factor sexual que condiciona la formación de *pili* (los llamados *pili* I) de la conjugación y la transmisión por conjugación de los factores Col.

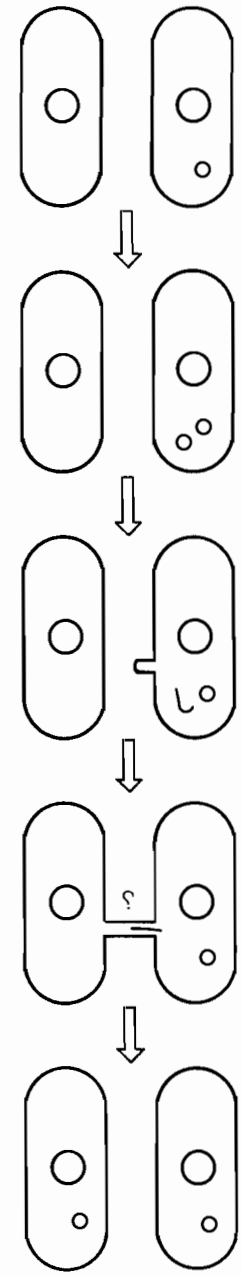


Fig. 4-12. Mecanismo de conjugación entre una bacteria donante y otra receptora de plásmidos (cap. 9).

Las bacteriocinas se cree que son responsables, al menos de forma parcial, de que la flora habitual normal del hombre y de los animales impida la colonización por otro tipo de flora exógena.

Plásmidos degradantes

La población microbiana saprofita del suelo y de las aguas naturales es esencial para todos los organismos vivos. Los organismos fototróficos, plantas y algas, fijan el C procedente del CO_2 presente en la atmósfera y en los océanos en compuestos orgánicos. Sólo los microbios tienen la capacidad metabólica para degradar y utilizar aquella materia

orgánica para la biosíntesis y producción de energía. Se lleva a cabo por todos los géneros de microbios heterotrofos del suelo y agua, hongos y bacterias, pero el más importante es el grupo de las *Pseudomonas*, en particular *P. putida*, *P. multivorans*, *P. acidovorans* y *P. fluorescens*. Se trata de genes que determinan las enzimas que catabolizan sustancias muy diversas, como tolueno, alcanfor y salicilatos.

Plásmidos de estafilococos

Los plásmidos encontrados en *Staphylococcus aureus* pueden ser análogos a los de las bacterias gramnegativas y presentan funciones similares: resistencia a los antibióticos e iones metálicos pesados (mercurio), y producción de enterotoxinas y hemolisinas.

Se diferencian de los factores R en que no se transmiten por conjugación y son específicos de esta bacteria. La naturaleza no conjugante impone limitaciones experimentales, pero puede transmitirse por transducción *in vitro*, mecanismo que parece ser el que se produce *in vivo*.

Los plásmidos de penicilinasa son los más grandes, con PM de 18-21 $\times 10^6$, y su efecto es idéntico al de los plásmidos de las bacterias gramnegativas.

Otros plásmidos

Bajo este epígrafe se incluyen, entre otros, plásmidos muy diversos, que en unos casos confieren resistencia al mercurio y a otros metales, como los citados para *Staphylococcus*, pero que se han hallado en *Pseudomonas*, *E. coli* y *Salmonella*. Otras veces inducen tumores a diferentes plantas dicotiledóneas, como ocurre en *Agrobacterium tumefaciens*, y en otros casos se trata de plásmidos de bajo peso molecular, presentes en muchas especies bacterianas y que se denominan «crípticos», porque no se conoce su expresión fenotípica ni tampoco su poder biológico.

Como se ha señalado, las bacterias portadoras del factor F determinan la producción de *pili* sexuales, que permiten la conjugación entre una cepa donante (F^+) y una receptora (F^-) (fig. 4-12). Pero la mayor parte de los plásmidos son mucho menos eficaces en la conjugación, debido a que asientan en bacterias escasamente piliadas. Esta circunstancia está motivada por la existencia de un sistema de represión adecuado de los *pili*, que se halla presente en la mayoría de los plásmidos, pero no en F. No obstante, es posible obtener mutantes en los que la represión de la síntesis de *pili* se ha frenado y se incrementa la transferencia; son los denominados mutantes «desreprimidos» (DRD).

SECUENCIAS DE INSERCION

En 1966, se comprobó la existencia de secuencias de ADN de 700 a 1.500 pares de bases, que se repiten en diferentes lugares del cromosoma, plásmidos o bacteriófagos. Estas secuencias pueden moverse de un sitio a otro del replicón por escisión y reinserción consecutiva o pasar de unos a otros replicones diferentes.

Los *transposones* son unidades genéticas no autorreplicables, consistentes en dos secuencias de inserción iguales, entre las que se encuentra un segmento de ADN, que codifica la resistencia a un determinado antibiótico; las dos secuencias se encuentran invertidas en su sentido de orientación, lo que permite un fácil desplazamiento e integración. Estas unidades se ha comprobado que pueden translocarse de uno a otro plásmido, cromosoma o bacteriófago, llevando genes que codifican la resistencia a tetraciclina, kanamicina y cloranfenicol. También se ha demostrado la existencia de transposones metabólicos (p. ej., lactosa).

BIBLIOGRAFIA

Davies, J., y Smith, D. I.: Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents. Ann. Rev. Microbiol., 32, 469-518, 1978.

Davis, B. D.: Bacterial structure and classification. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed., 17-30. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Elwell, L. P., y Shipley, P. L.: Plasmid-mediated factors associated with virulence of bacteria to animals. Ann. Rev. Microbiol., 34, 465-496, 1980.

Freeman, B. A.: Burrows, Textbook of Microbiology, 21.ª ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1979.

Jawetz, E.; Melnick, J. L., y Adelberg, E. A.: Manual de Microbiología Médica. 9.ª ed. El Manual Moderno, México, 1981.

Leive, L. L., y Davis, B. D.: Cell envelope; spores. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Loiseau-Marolleau, M. L.: Les bactéries: Anatomie fonctionelle, physiologie variabilité. En Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Maladies infectieuses et parasitaires. Editions Techniques, París, 8000 A^{10}, 1975.

Smith, A. L.: Microbiology and pathology. C. V. Mosby, Saint Louis, 1980.

Volk, W. A.: Essentials of Medical Microbiology. J. B. Lippincott, Philadelphia, 1978.

Wheat, R. W.: Bacterial morphology and ultrastructure. En Joklik, W. K.; Willet, H. P., y Amos, D. B. (dirs.): Zinsser Microbiology, 17.ª ed., 26-45. Appleton-Century Crofts, New York, 26-45, 1980.

Capítulo 5

Estructura bacteriana (III)

José Angel García-Rodríguez

ELEMENTOS FACULTATIVOS: CAPSULA, GLICOCALIX, FLAGELOS Y FIMBRIAS. EL ESPORO

CAPSULA

La cápsula o capa mucosa es un elemento inconstante, no esencial para la fisiología bacteriana, presente en algunas bacterias tanto grampositivas como gramnegativas. Está constituida por polímeros orgánicos sintetizados por la propia bacteria, que se segregan y depositan por fuera de la pared bacteriana. La diferenciación entre cápsula y capa mucosa, para la mayoría de los autores, estriba en su capacidad de adherirse a la pared bacteriana. En este sentido, la cápsula, que se delimita perfectamente por tinción negativa (p. ej., con tinta china), sería compacta y estaría fuertemente adherida a la pared bacteriana, de la que es muy difícil separarla por agitación o solubilización. Los polímeros de la capa mucosa son menos abundantes y están más dispersos, en consecuencia no estarían tan pegados a la pared y se solubilizan con facilidad en agua. Algunos autores han señalado incluso una capa mucosa por fuera de la cápsula.

La visualización de esta estructura depende fundamentalmente de su espesor. En ocasiones, su grosor permite observarla fácilmente, otras veces al tratarse de una estructura extraordinariamente fina resulta más difícil y es necesario para detectarla el recurrir a métodos químicos e inmunológicos. El grosor varía de 0,2 a 1 µm o superior y dobla a veces el volumen bacteriano.

El examen directo en fresco, con el microscopio ordinario o mejor aún en contraste de fases, muestra un halo claro y refringente en torno al microorganismo. Existen técnicas de tinción de contraste y de tinción negativa con tinta china (tinción de Burri) que muestran, como un halo incoloro alrededor de la bacteria. Esta adopta una coloración grisácea que destaca del fondo negro intenso de la preparación (fig. 5-1).

La cápsula no siempre rodea un elemento bacteriano único, como sucede con *Klebsiella pneumoniae*, sino que lo habitual es englobar más de una bacteria, bien en parejas *(S. pneumoniae)* o en cadenas *(Bacillus)*, o elementos situados en distintos planos *(Leuconostoc)* (fig. 5-2).

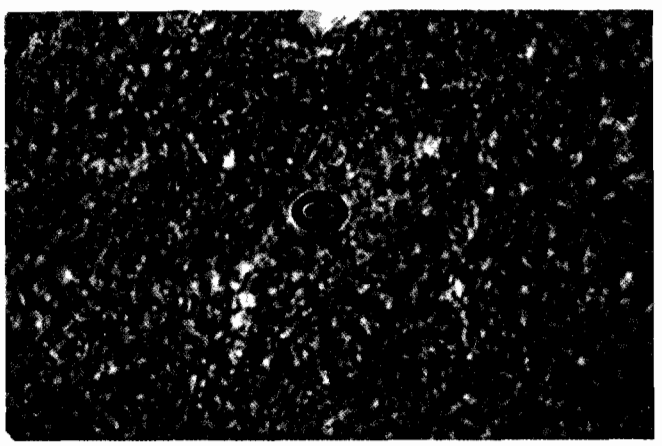


Fig. 5-1. Fotografía al microscopio óptico de *Streptococcus pneumoniae* capsulado. Tinción negativa con tinta china. La cápsula aparece como un halo transparente en torno al soma bacteriano.

Composición química

Es compleja y diferente según las especies. Los principales componentes son polisacáridos, pero en ocasiones están formadas por polipéptidos.

Cápsulas glucídicas

Se trata habitualmente de polisacáridos complejos, formados por una mezcla de monosacáridos y ácidos urónicos,

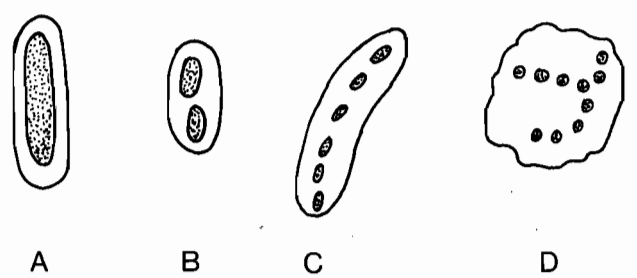


Fig. 5-2. Diferentes aspectos de la cápsula bacteriana: A) *K. pneumoniae*. B) *S. pneumoniae*. C) *B. anthracis*. D) *L. mesenteroides*.

a los cuales se asocian en ocasiones azúcares aminados y acetilados. Contienen gran cantidad de agua (hasta el 90 %). Los azúcares más habituales que constituyen los polisacáridos son la D-glucosa, D-galactosa y D-manosa. En definitiva, en los polisacáridos capsulares se encuentran aminoazúcares y ácidos urónicos (glucurónico, galacturónico y manourónico).

Entre las bacterias más representativas de este grupo se encuentran *S. pneumoniae, K. pneumoniae* y *Haemophilus influenzae.*

Menos frecuentes son las cápsulas formadas por polisacáridos simples, de un solo glúcido, como dextrano y levano. Aparecen en bacterias del tipo *Leuconostoc* y algunos estreptococos, en el primer caso, y determinadas especies de *Pseudomonas* (no aeruginosa), en el segundo.

Cápsulas peptídicas

Son propias del género *Bacillus* y están formadas por polipéptidos de un solo aminoácido, el D-glutámico.

Capsulogénesis

La información genética necesaria para la biosíntesis de esta estructura radica en el ADN cromosómico.

La cápsula se manifiesta en los productos patológicos o en los medios de cultivo enriquecidos con proteínas animales (suero o líquido ascítico) y los mutantes acapsulados pueden recuperar la capacidad de sintetizar esta estructura después del contacto con una cepa capsulada (transformación genética), fenómeno que ha sido muy bien estudiado en el neumococo (cap. 9).

En cuanto a la síntesis hay que destacar que los homopolisacáridos (dextrano y levano) se forman directamente a partir del sustrato, que es la sacarosa, aportado de manera exógena.

La síntesis de los heteropolisacáridos se produce como resultado del metabolismo intermediario normal, y los azúcares sintetizados por la bacteria se incorporan a los polisacáridos. En la mayoría de casos, la síntesis tiene lugar mediante la vía de los precursores de los nucleótidos (UDP-glucosa, UDP-galactosa, GDP-manosa). La formación se produce en la membrana citoplásmica con transferencia de radicales glucosil, transportados por un lípido (C55-Isoprenoide).

Propiedades y funciones de la cápsula

Protección y virulencia

La cápsula protege la mayoría de las bacterias de la fagocitosis, favoreciendo su multiplicación y facilitando la invasión del organismo infectado. La virulencia desaparece en el momento en que se pierde la cápsula.

El mecanismo íntimo de la resistencia a la fagocitosis no se conoce, pero se han emitido varias teorías: Para unos autores, el rechazo a la fagocitosis se produciría debido a la carga eléctrica; para otros, la cápsula no es considerada por los fagocitos como sustancia extraña, y los más consideran que la bacteria adquiere una capacidad deslizante que impide su adherencia a los fagocitos. Esta protección es efectiva asimismo frente a la desecación.

Elemento de identificación morfológica

La evidencia o no de cápsula orienta la clasificación de una bacteria en un género o familia determinados, bien sea por visualización microscópica o por el aspecto de las colonias lisas o mucosas (colonias S o M) (cap. 6).

Capacidad antigénica

Esta estructura permite la diferenciación de tipos serológicos dentro de una especie dada, ya que presenta una especificidad antigénica, que puede ponerse de manifiesto mediante reacciones inmunológicas del tipo de «hinchazón» o vitrificación de la cápsula (fenómeno de Neufeld, utilizado en el neumococo) o de aglutinación frente a sueros específicos.

Este tipado serológico tiene gran interés para estudios epidemiológicos.

Además, sus componentes polisacáridos, en algunas bacterias (neumococo, meningococo, *Haemophilus* y *Bordetella*), originan la producción de anticuerpos protectores. Esta característica permite la preparación de vacunas contra la tos ferina con cepas capsuladas de *Bordetella pertussis* o las vacunas antineumocócicas o contra la meningitis producida por determinados serotipos de meningococo o de *Haemophilus influenzae.*

Protección frente a fagos y antibióticos

La cápsula impide o dificulta, en el primer caso, la fijación de bacteriófagos y, en el segundo, que los antimicrobianos puedan llegar a la pared, a la membrana citoplásmica o al interior del citoplasma, para ejercer su acción antibacteriana.

GLICOCALIX

Algunas bacterias cuando se desarrollan en su hábitat natural son capaces de segregar un homopolímero (levano o dextrano), que se sitúa en posición extracelular y forma un entramado de fibrillas polisacáridas, que facilitan la adherencia, como sucede entre *S. mutans* y el esmalte dental. Esta propiedad se pierde, al igual que en muchas ocasiones sucede con la cápsula, cuando la bacteria se desarrolla sobre los medios de cultivo (fig. 5-3).

Este polisacárido extracelular, a pesar de ser electrón transparente, puede ponerse de manifiesto al microscopio electrónico con colorantes polianiónicos específicos, como el rojo de rutenio.

FLAGELOS

También elementos facultativos son órganos de estructura helicoidal y locomotores, responsables de la movilidad bacteriana. Constituyen, además, el soporte de la antigenicidad H. Frecuentes en bacilos y vibriones, su presencia es excepcional en los cocos.

Fig. 5-3. *Streptoccocus mutans.* Glicocálix.

Morfología y tinción

Se trata de filamentos ondulados, sinuosos y flexibles, no ramificados y muy frágiles. Su diámetro uniforme oscila de 10 a 20 nm, pero su longitud es muy variable según las especies (2-20 µm), aunque es siempre superior a la del soma.

Su disposición sobre la superficie de la bacteria difiere en las distintas especies y constituye un carácter taxonómico importante. El género *Vibrio* posee un solo flagelo polar (monotricas), en *Pseudomonas* habitualmente se presentan en penacho (lofotricas) y en algunos espirilos se disponen en ambos polos (anfítricas). La mayoría de las enterobacterias tienen flagelos distribuidos sobre toda la superficie bacteriana (perítricas). El número de flagelos en este último caso es muy variable, pero puede llegar hasta 100 ó más (fig. 5-4).

Se trata de estructuras que no pueden demostrarse por examen directo en fresco ni por los métodos habituales de coloración. Es necesario utilizar técnicas especiales, como la impregnación argéntica o la coloración por fucsina después de la aplicación de un mordiente de tanino. También puede recurrirse a la impregnación con ácido fosfotúngstico y posterior examen al microscopio electrónico. Estos distintos métodos sólo proporcionan resultados satisfactorios en bacterias muy jóvenes y cultivadas en condiciones óptimas (fig. 5-5).

Estructura y composición

Los flagelos se componen de tres partes: filamento, codo o manguito y corpúsculo basal. El filamento es la parte externa y conecta con el codo en la superficie bacteriana. Ambos pueden diferenciarse fácilmente, puesto que el codo es curvado y de un diámetro ligeramente superior (por término medio, 17 nm) (fig. 5-6).

El filamento se forma por una proteína contráctil, la *flagelina*, que tiene una estructura periódica análoga a la de la miosina del músculo estriado, aunque sin actividad ATP-asa. Esta proteína especial se compone de monómeros o subunidades idénticos, dispuestos de forma helicoidal en 6 u 8 hileras alrededor de un eje cilíndrico hueco. Las subunidades tienen la capacidad de polimerizarse tanto *in vitro* como *in vivo*, por lo que la reconstitución *in vitro* de flagelos

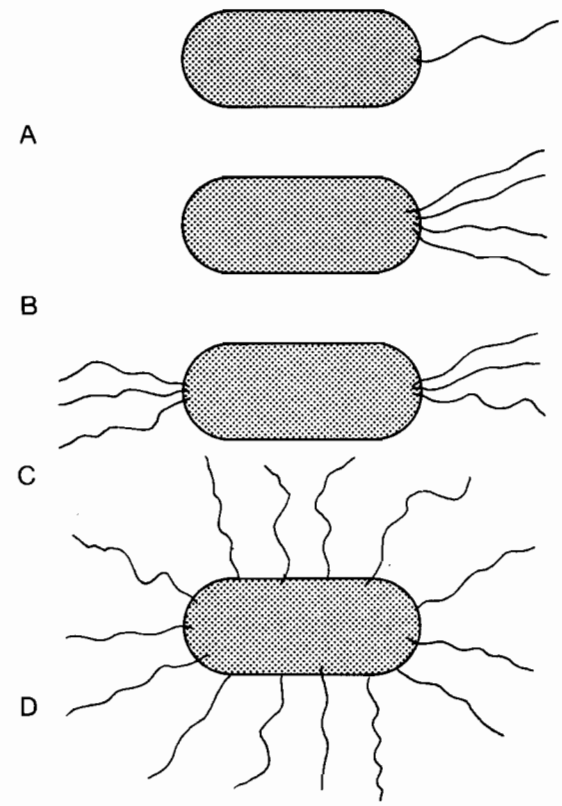


Fig. 5-4. Diferentes tipos de bacterias flageladas: A) Monótricas. B) Logótricas. C) Anfítricas. D) Perítricas.

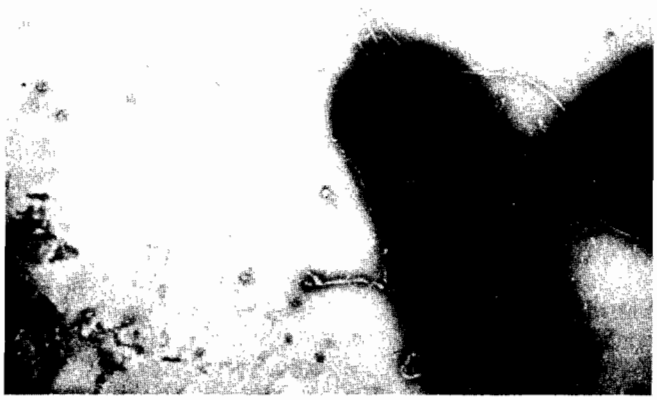


Fig. 5-5. Microfotografía electrónica de *Pseudomonas aeruginosa* mostrando los flagelos polares.

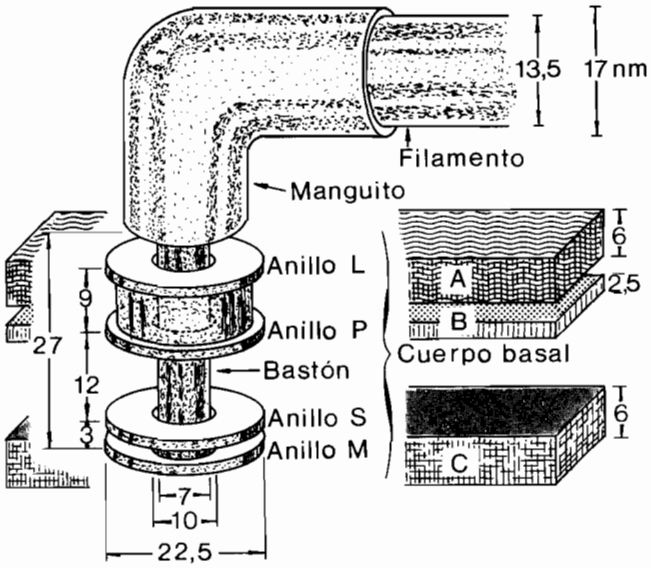


Fig. 5-6. Esquema representativo del extremo basal de un flagelo de una bacteria gramnegativa. Situación topológica respecto a la pared bacteriana y a la membrana citoplásmica, y dimensiones de las diferentes estructuras. A, capa lipopolisacárida; B, capa de peptidoglicano; C, membrana citoplásmica.

puede lograrse a partir de los monómeros en presencia de un fragmento de flagelo normal como iniciador. La estructura de estas subunidades proteicas es la responsable de la actividad antigénica del flagelo (antígeno H) (fig. 5-7).

El codo, distinto morfológicamente del corpúsculo basal, está compuesto de una unidad proteica simple. Es más estable que el filamento a pH bajo, altas concentraciones de urea, solventes orgánicos y agentes desnaturalizantes, propiedades que constituyen la base para la separación de ambos. Es antigénicamente distinto de la flagelina del filamento, y en *E. coli* tiene 45 nm de longitud y está compuesto de 6 filamentos helicoidales concéntricos.

El corpúsculo basal, en las bacterias gramnegativas, está formado por dos pares de discos de 22,5 nm de diámetro. Uno de estos pares se sitúa en la membrana citoplásmica: el anillo M se inserta dentro o justamente por debajo de ella y el anillo S se sitúa inmediatamente por fuera de la membrana y queda posiblemente adherido a la superficie más interna de la capa del peptidoglicano. El otro par se adosa sobre la pared bacteriana: el anillo P en el peptidoglicano y el L en el lipopolisacárido. En las bacterias grampositivas sólo existe un par de discos, uno en la membrana y otro que parece estar en conexión con los ácidos teicoicos de la pared.

Papel y función de los flagelos

Los flagelos son los responsables de la movilidad y de la especificidad antigénica H.

Movilidad

Es un criterio taxonómico de identificación, pero no se conoce con exactitud el mecanismo o mecanismos de locomoción de las bacterias flageladas. El flagelo es una estructura flexible que propaga una onda helicoidal desde la base hasta su extremo libre. Se han propuesto varios mecanismos de generación de esta onda helicoidal, que se pueden sintetizar en una formación de fibras contráctiles de flagelina, vibración del corpúsculo basal o dislocación de las moléculas de flagelina. Se ha sugerido, también, que el flagelo es una especie de hélice rígida y la movilidad, la consecuencia de la rotación de esta hélice sobre el corpúsculo basal. El movimiento rotatorio se considera que se genera entre los anillos S y M, consecuencia del intercambio de iones entre ambos.

La movilidad puede objetivarse mediante examen en fresco, entre porta y cubre, de una gota de un cultivo bacteriano. Se traduce por movimientos en todos los sentidos y planos del espacio. No debe confundirse con los desplazamientos que pueden presentar las bacterias en el mismo sentido siempre y son debidos a corrientes líquidas, ni con el movimiento browniano o pendular a través de un eje propio de algunas partículas en suspensión, como sucede con bacterias inmóviles del género *Shigella* (cap. 6).

Un método muy eficaz de determinar la movilidad es la siembra por picadura central sobre un cultivo en tubo de agar semisólido. La difusión de la bacteria a través del medio es reflejo de la movilidad y se desarrolla en la zona de siembra, pero también en el área próxima. Las bacterias inmóviles sólo se multiplican en la línea de picadura.

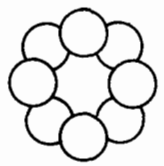


Fig. 5-7. Modelo que sugiere la aposición helicoidal de las subunidades proteicas de flagelina (PM, 40.000 daltons), que se disponen para formar un filamento, por término medio, de 14 nm de diámetro.

La expresión fenotípica de la movilidad depende de varios factores, entre los que destacan el oxígeno ambiental (indispensable para la observación de la movilidad en las bacterias aerobias estrictas), la consistencia del medio (el escaso contenido de agar favorece la movilidad) y la temperatura de incubación (esencial para algunas bacterias: *Yersinia pseudotuberculosis* y *Listeria monocytogenes* son móviles a temperaturas inferiores a 30 °C e inmóviles a 37 °C).

Antígeno H

Es responsable de la aglutinación flagelar y es específico de tipo. La búsqueda de este antígeno H por aglutinación, en presencia de sueros anti-H específicos, permite el tipado serológico de una bacteria móvil en el seno de una especie dada. Es la base de la clasificación de algunas bacterias gramnegativas, en particular las pertenecientes al género *Salmonella*.

FIMBRIAS

Los *pili* o fimbrias son elementos filamentosos inconstantes, no fundamentales para la vida bacteriana, visibles solamente al microscopio electrónico y carentes de movilidad. Las poseen fundamentalmente las bacterias gramnegativas. En las bacterias grampositivas se han descrito en *Corynebacterium renale* y algunos estreptococos. Están constituidos por una proteína especial y antigénica (pilina), que tiene un peso molecular de 17.000. Las fimbrias varían en número, diámetro y longitud según la especie bacteriana. Uno de los mayores nichos ecológicos de bacterias con fimbrias es el tracto urinario (fig. 5-8).

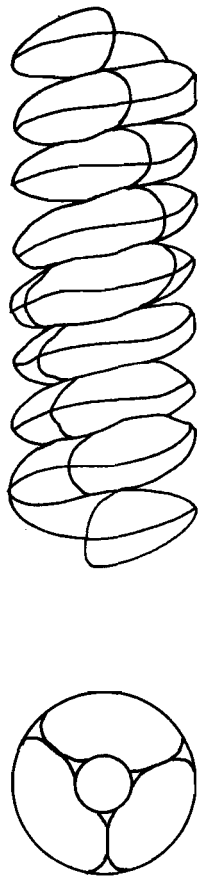
Son filamentos rígidos de 7-8 nm de diámetro, cortos (0,5-2 μm), muy numerosos (100 a 200 por bacteria) e implantados por toda la superficie bacteriana. Pueden ser fácilmente separados de las bacterias por agitación mecánica y obtenidos en estado puro por centrifugación rápida y precipitación.

Las fimbrias comunes se adhieren al látex, hematíes y glicocálix de los epitelios, y precisamente esta capacidad de adherencia es su principal carácter. Las bacterias con fimbrias forman películas en los medios líquidos.

Además de sus propiedades antigénicas (lo que puede aprovecharse para preparación de vacunas), son el soporte, como se ha señalado ya, de la adherencia y, por tanto, un factor de iniciación de la infección. Por ejemplo, las cepas de gonococo que poseen fimbrias son capaces de adherirse mejor a las células de la mucosa uretral y vaginal.

Las fimbrias comunes según diversas propiedades se clasifican en grupos. Así, en las enterobacterias se han separado siete tipos atendiendo a: tamaño, presencia de adhesinas, capacidad hemaglutinante y sensibilidad a la D-manosa (v. tabla 15-1).

Existe una subclase de fimbrias que reciben el nombre de *pili* y que intervienen en la conjugación bacteriana. Estas fimbrias son más largas (pueden medir hasta 20 μm), y tienen un diámetro similar. Son flexuosas y poco numerosas (1 a 4 por bacteria), y finalizan en una especie de botón. Existen dos tipos principales de *pili* F e I, y son necesarios para transferir el material genético desde las bacterias donantes a las receptoras durante la conjugación bacteriana.



BIBLIOTECA POPULAR RETIRO · COMUNIDAD DE MADRID

Fig. 5-8. Posible modelo de colocación de las subunidades proteicas de la pilina (PM, 17.000 daltons) y se dispone en un helicoide de 7 nm de diámetro.

Los *pili* F se encuentran en las tres variedades de bacterias que tienen el factor sexual F: bacterias F^+, bacterias Hfr y bacterias F′. Los *pili* I, más cortos y más finos que los anteriores, son sintetizados por las bacterias que poseen el factor colicinógeno Col I. Los *pili* codificados por plásmidos de resistencia a los antibióticos son de tipo F o bien de tipo I. Su presencia es indispensable para la conjugación bacteriana, y el paso de material genético no necesariamente se realiza a través del canal de los *pili*, sino por un puente citoplásmico establecido entre las dos bacterias. Los *pili* F son también receptores para determinados fagos.

Existen, además, otros dos tipos de *pili*: «*F-like*» e «*I-like*». Los *pili* «*F-like*» son similares morfológicamente a los *pili* F y están presentes en bacterias portadoras de plásmidos, Col V, Col B, Ent, Hly, R y de antígeno K88. Estos plásmidos tienen una propiedad adicional y es que pueden transferirse a bacterias portadoras de factor F, lo que va a ocasionar una disminución de la síntesis de *pili* F y se reduce drásticamente la frecuencia conjugacional. Los plásmidos con estas propiedades se llaman fi^+ (inhibidores de la fertilidad).

Los *pili* «*I-like*», parecidos a los *pili* I, son más cortos que los «*F-like*» y rara vez huecos. Se encuentran en bacterias portadoras de plásmidos Col Ia y en algunas que tienen factor R. No tienen efecto sobre la fertilidad de las bacterias F^+ y, por ello, se denominan fi^-.

En un primer estadio se consideró que podrían agruparse los plásmidos en dos grupos fi^+ y fi^-, pero, al descubrirse

nuevos plásmidos, se vio la necesidad de disponer de otros métodos más precisos, como resultado de la observación de la existencia de barreras que impiden la transferencia de ciertos plásmidos hacia el interior de células que sean ya portadoras de otros plásmidos diferentes.

Esta inmunidad a la sobreinfección es el resultado de dos fenómenos distintos; por un lado, se trata de una exclusión de superficie por el plásmido ya existente, que inhibe la transferencia por conjugación de ADN hacia el interior de la célula, y, por otro, se trata de una incompatibilidad entre plásmidos, de manera que, si un plásmido incompatible se introduce en una célula que alberga ya otro plásmido, mediante una presión selectiva suficientemente fuerte, los dos se influyen mutuamente inhibiéndose la replicación de ambos.

El estudio de los mecanismos de esta incompatibilidad constituye el mejor método de clasificación de plásmidos.

ESPORO

Se trata de una estructura presente en algunas especies bacterianas exclusivamente bacilares. Pueden estar en el interior de la bacteria (endosporos) o permanecer libres, y estos últimos constituyen la forma de resistencia de las bacterias.

Es un órgano refringente, esférico u oval, termorresistente, que constituye una forma de resistencia bacteriana ante situaciones de deficiencia nutricional, desecación, frío, temperaturas elevadas y determinados agentes químicos. La capacidad de esporular de una bacteria y la situación del endosporo sobre su citoplasma constituye asimismo un criterio taxonómico importante.

Morfología y tinción

Los endosporos, en ocasiones, no deforman el soma bacteriano, ya que su diámetro es inferior al eje menor de la bacteria, caso de *Bacillus*. Otras veces sí lo hacen, como sucede en *Clostridium* (fig. 5-9).

Su tamaño es variable según las especies y oscila entre 0,2 y 2 μm de diámetro. Su localización en la bacteria es irregular y se muestra unas veces en posición central *(Bacillus)*, otras subterminal *(Clostridium)* y otras en la zona terminal *(Clostridium tetani)*.

Las formas libres aparecen en general en los cultivos viejos a consecuencia de la desintegración de las bacterias.

El esporo no se tiñe por los colorantes habituales y se identifica como una zona clara, redondeada u ovalada, que contrasta con el resto de la bacteria que aparece coloreada. Existen, no obstante, medios de tinción especiales que permiten reconocerlos.

Al microscopio de contraste de fases se presentan como estructuras de marcada refringencia. Por estudio de cortes ultrafinos, al microscopio electrónico, se aprecian los distintos componentes que lo integran.

Estructura y composición química (fig. 5-10)

Se separan dos partes. Una central, *core*, y otra periférica, o *cortex*. La parte central está formada por todas las estructuras que permiten su transformación en formas vegetativas durante la germinación: nucleoplasma excéntrico, citoplasma denso y granuloso, membrana esporal y pared esporal con restos de mureína.

Por fuera se encuentra el *cortex*, que es un glicopéptido especial con menos enlaces cruzados, y las cubiertas (intina y exina), que tienen gran cantidad de queratina responsable de la impermeabilidad. A veces existe una segunda cubierta de naturaleza lipoproteica o exo*sporium*.

En el esporo se han reconocido proteínas, lípidos, polisacáridos, ARN y ADN, y algún componente propio que no se ha descrito en las formas vegetativas, como el ácido dipicolínico que se encuentra en el *cortex* en forma de dipicolina-

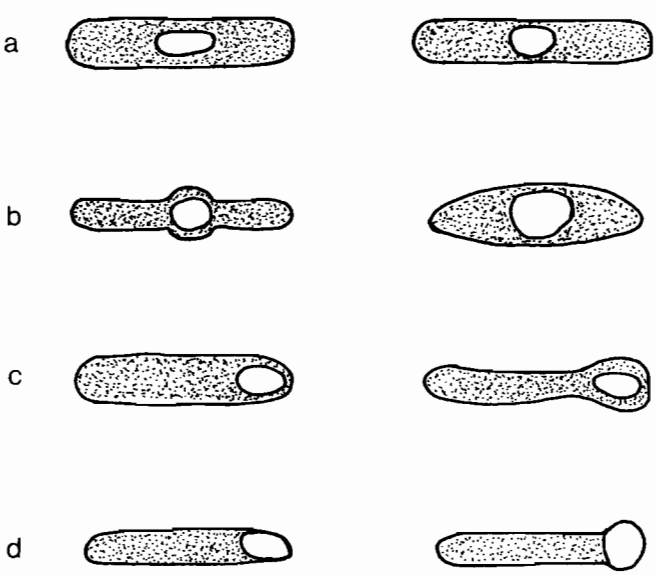


Fig. 5-9. Disposición esquemática del esporo bacteriano: *a)* Esporo en situación central no deformante. *b)* Esporo central deformante. *c)* Esporo situado en posición subterminal no deformante y deformante, respectivamente. *d)* Esporo terminal no deformante y deformante.

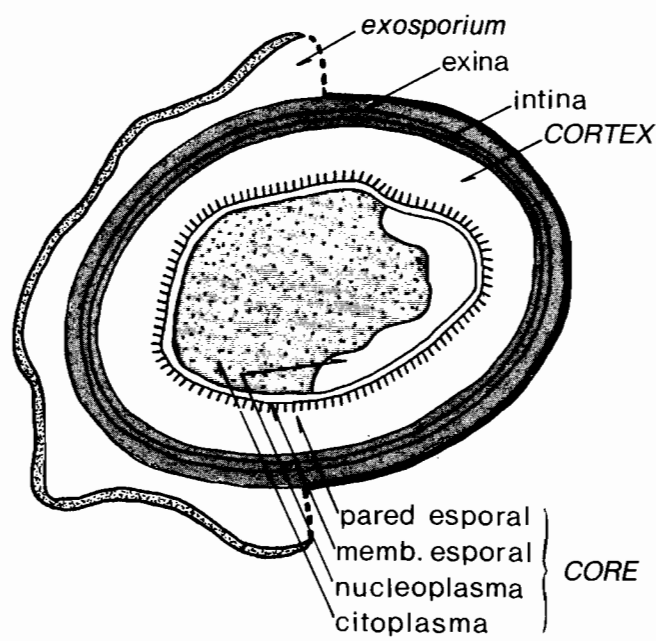


Fig. 5-10. Corte transversal de un esporo mostrando las diferentes estructuras (explicación en el texto).

to de calcio. El contenido en agua del esporo es muy pequeño y no aparece en forma libre, sino combinada.

Propiedades y funciones

La propiedad más importante del esporo es su resistencia al calor (se precisan temperaturas elevadas, 120 °C, durante 30 minutos, o varias horas, en el horno de Pasteur para destruirse), desecación, presiones elevadas, radiaciones ionizantes y ultravioleta, así como a numerosos agentes químicos. La termorresistencia está en relación con su escaso contenido en agua, que hace que las proteínas y ácidos nucleicos sean más resistentes a la desnaturalización. Además, se relaciona con el dipicolinato de calcio, la existencia de cubiertas protectoras ricas en queratina y proteínas con puentes disulfuro. Algunos autores consideran que se debe a la peculiar estructura del peptidoglicano, que se halla en el cortex y se expande en presencia de iones Ca, y precisamente por esta característica tan especial resiste más al calor. También se considera que el pequeño tamaño de las moléculas de enzimas, en relación con el que presentan las formas vegetativas, estabiliza más las estructuras internas.

El esporo posee capacidad inmunógena, y se ha demostrado que algunos de sus antígenos son distintos de los existentes en las formas vegetativas, pero específicos y comunes a todas las cepas de la misma especie.

Su metabolismo es muy limitado y apenas presentan actividad enzimática. La catalasa termoestable de los esporos es inmunológicamente distinta de la existente en la célula vegetativa. Glucosa-deshidrogenasa, ribonucleasa y enzimas líticas se encuentran en el esporo y no en las formas vegetativas. El esporo, por último, mantiene la virulencia de la forma vegetativa de la que deriva.

Esporulación

El paso de una bacteria en forma vegetativa a su forma esporulada incluye importantes cambios morfológicos y fisiológicos. Al tiempo que se van sintetizando las estructuras esporales, se acumulan compuestos de poli-β-hidroxibutirato y se modifican algunas macromoléculas así como la composición enzimática. Algunas bacterias son capaces de producir fácilmente esporos (*B. cereus* y *C. sporogenes*), en tanto que otras esporulan con mayor rareza (*C. welchii*).

Iniciación de la esporulación

La esporulación es una respuesta a determinadas condiciones ambientales y son varios los factores que pueden iniciarla. La oxigenación la favorece en el caso de las bacterias aerobias y una baja concentración de oxígeno lo hace en el de las anaerobias. La temperatura elevada inhibe la esporulación. La penuria de glucosa, cinc o hierro la favorece, mientras que la deficiencia en calcio y magnesio la frena. El efecto más acentuado, sin embargo, es el causado por las fuentes de carbono y nitrógeno disponibles, pues la falta o disminución del gradiente de éstos son las principales introductoras de la esporulación.

La regulación de la esporulación se produce por un proceso de diferenciación, mediante el cual un conjunto de genes, que determinan la producción de los componentes del esporo y que permanecían reprimidos en la fase vegetativa, se activan, en tanto que otro grupo de genes responsables de la actividad bacteriana vegetativa se inactivan.

Fases

Los cambios morfológicos mejor estudiados lo han sido en *B. subtilis*. Pueden sistematizarse en ocho fases o estadios como se muestran en la figura 5-11.

Estadio 0. Representa la forma vegetativa al final del período exponencial, en el que la bacteria contiene dos cromosomas (es el instante inmediatamente anterior a la división).

Estadio I. Se aprecia cómo el material nuclear se dispone en forma de un filamento que ocupa la parte central del soma bacteriano. El hecho más importante que ocurre en este estadio es la excreción de enzimas (proteasas) y antibióticos al medio.

Estadio II. Corresponde a la formación de un tabique que separa la cromatina nuclear en dos partes, una de las cuales emigra hacia uno de los polos de la célula. Durante esta fase hay un aumento importante de la alanina-deshidrogenasa.

Estadio III. En esta fase se forma el preesporo como consecuencia del crecimiento unidireccional de la membrana citoplásmica de la célula vegetativa o esporangio. Las enzimas que en esta fase presentan una gran actividad son la glucosa-deshidrogenasa, aconitasa, fosfatasa alcalina y catalasa termoestable.

Estadio IV. Es la fase de formación del cortex (cortex inmaduro), momento en que el esporo comienza a aparecer como un elemento retráctil. Hay aumento de la actividad de la ribosidasa y de la adenosín-desaminasa. Comienza a aparecer el ácido dipicolínico.

Estadio V. Es el período de formación de las cubiertas (intina y exina), con incorporación a ellas de proteínas con alto contenido en cisteína. El esporo se hace impermeable al agua y se observa al microscopio como un cuerpo blanquecino.

Estadio VI. Es la fase de maduración del esporo. El cortex madura y el citoplasma se hace más homogéneo y más denso a los electrones. Se forma la enzima alanina-racemasa y se suceden una serie de cambios que condicionan la resistencia del esporo a los solventes orgánicos y al calor. La alanina-racemasa es una enzima importante para la germinación del esporo.

Estadio VII. El endosporo, una vez maduro, es liberado de la célula madre. Se inicia con la síntesis de una enzima lítica o la activación de aquél como consecuencia de la propia maduración.

Germinación

Se trata del fenómeno inverso al anterior y consiste en la transformación del esporo en forma vegetativa.

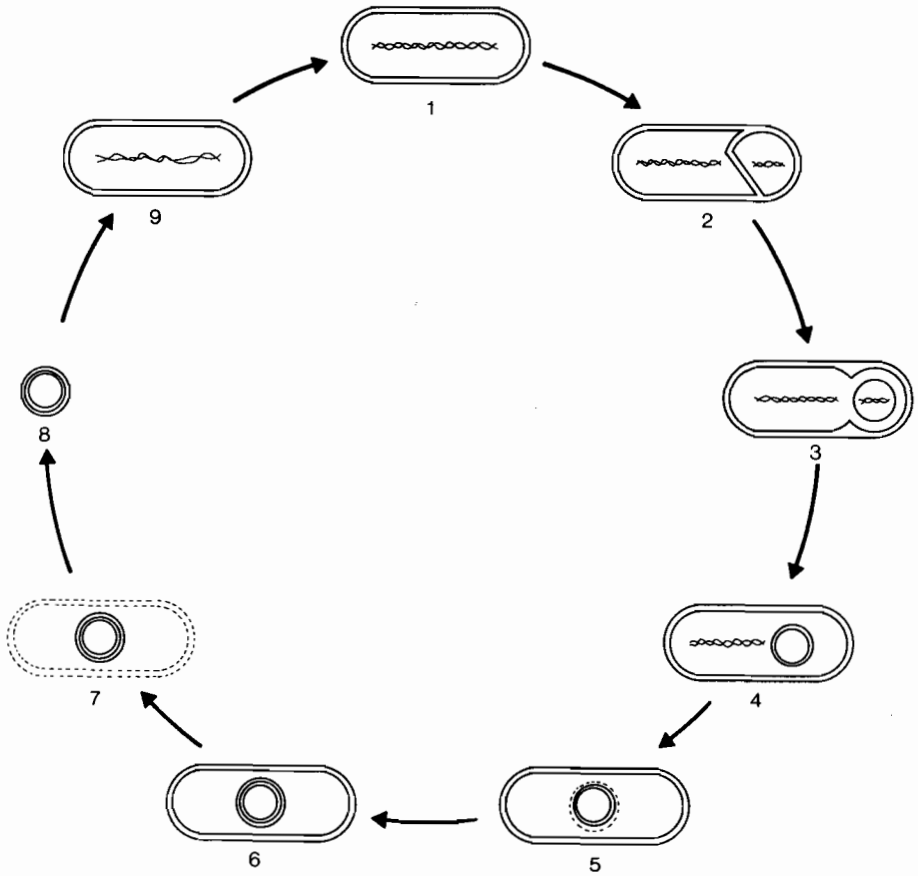


Fig. 5-11. Cambios morfológicos en la formación del esporo: 1) Filamento cromatínico axial (estadio I). 2) Formación del septo (estadio II). 3) Formación del presporo (estadio III). 4) Formación del *cortex* (estadio IV). 5) Inicio de la síntesis de las cubiertas esporales (estadio V). 6) Maduración del esporo (estadio VI). 7) Liberación del endosporo de la bacteria vegetativa (estadio VII). 8) Esporo libre. 9) Forma vegetativa bacteriana (estadio 0).

Cuando las condiciones de humedad, calor y nutrición se vuelven favorables, el esporo puede germinar. La germinación comporta la pérdida de la refringencia y de la termorresistencia, la formación del mucopéptido, la captación de agua y la eliminación del ácido dipicolínico.

Al igual que la esporulación, existen condiciones varias que pueden influir favorable o desfavorablemente en la germinación: el calor moderado, presencia de cloruro magnésico, L-alanina y ciertos disacáridos favorecen la germinación. Los antisépticos, ácidos grasos, iones de metales pesados, hierro, cobre, calcio y las pentosas la inhiben.

El proceso de germinación ocurre en tres etapas:

Activación

Para que el esporo germine, aparte encontrarse en un ambiente nutritivo adecuado, necesita la activación previa, mediante la lesión de las cubiertas externas por el calor (60 °C durante 1 hora), abrasión, acidez o compuestos portadores de grupos sulfhidrilo libres.

Iniciación

La germinación se inicia si las condiciones ambientales son favorables. Existen múltiples efectores cuya eficacia depende de la existencia de receptores determinados en la bacteria. El enlace del efector (p. ej., L-alanina o adenosina según las especies) activa una autolisina que altera rápidamente el peptidoglicano cortical. Se absorbe agua, se elimina dipicolinato cálcico y se degradan los distintos constituyentes del esporo por enzimas hidrolíticas.

Extrusión

Una vez degradados las cubiertas y el *cortex*, surge un período de biosíntesis activa que termina en una división celular (extrusión o excrecencia). La excrecencia precisa una fuente abastecedora de todos los nutrientes esenciales para el desarrollo bacteriano. Esta fase finaliza con la división celular.

BIBLIOGRAFIA

Adler, J.: Chemotaxis in bacteria. Ann. Rev. Biochem., 44, 341-356, 1975.

Aronson, A. I., y Fitz-James, P.: Structure and morphogenesis of the bacterial spore coat. Bacteriol. Rev., 40, 360-402, 1976.

Davis, B. D.: Bacterial structure and classification. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed., 17-30. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Doetsch, R. N., y Sjoblad, R. D.: Flagelar structure and function in eubacteria. Ann. Rev. Microbiol., 34, 69-108, 1980.

Freeman, B. A.: Burrows, Textbook of Microbiology, 21.ª ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1979.

Jawetz, E.; Melnick, J. L., y Adelberg, E. A.: Manual de Microbiología Médica. 9.ª ed. El Manual Moderno, México, 1981.

Loiseau-Marolleau, M. L.: Les bactéries: Anatomie fonctionnelle, physiologie, variabilité. En Encyclopédie Médico-chirurgicale. Maladies infectieuses et parasitaires. Editions Techniques, Paris, 8000 A^{10}, 1975.

Silverman, M., y Simon, M. I.: Bacterial flagella. Ann. Rev. Microbiol., 31, 397-419, 1977.
Smith, A. L.: Microbiology and pathology. C. V. Mosby, Saint Louis, 1980.
Volk, W. A.: Essentials of Medical Microbiology. J. B. Lippincott, Philadelphia, 1978.
Wheat, R. W.: Bacterial morphology and ultrastructure. En Joklik, W. K.; Willet, H. P., y Amos, D. B. (dirs.): Zinsser Microbiology, 17.ª ed., 26-45. Appleton-Century Crofts, New York, 1980.
Willet, H. P.: Physiology of bacterial growth. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Zinsser Microbiology, 3.ª ed., 76-105. Harper and Row. Cambridge, 1980.

Capítulo 6

Morfología, división y crecimiento de las bacterias

José Angel García-Rodríguez

MORFOLOGIA GENERAL

Las bacterias presentan una morfología y un tamaño muy variable, así como diferentes sistemas de agrupación que permiten distribuirlas en grupos afines que faciliten su estudio.

El reconocimiento de estas características se logra por diferentes métodos de examen de las bacterias, en fresco o por tinción, utilizando el microscopio óptico.

Examen en fresco

A partir de una suspensión de gérmenes, la observación entre porta y cubre al microscopio óptico resulta poco definitoria, debido a que el índice de refracción de las bacterias está próximo o es igual al líquido de suspensión, y, por tanto, resulta difícil diferenciarlas. Por ello, es necesario recurrir a técnicas que faciliten la obtención de un mayor contraste.

Más interés tiene la técnica llamada «gota pendiente», que consiste en depositar una gota de la suspensión sobre un cubreobjetos, que se invierte sobre un portaobjetos excavado. La observación con objetivo seco permite estudiar la movilidad (fig. 6-1).

Se puede mejorar el contraste utilizando el llamado *microscopio de fondo oscuro* (que emplea un condensador especial para eliminar los rayos directos de luz, y se logra el efecto «Tyndall», que es muy útil para la observación de espiroquetas y bacterias especialmente finas).

El microscopio de *contraste de fases* se basa en el diferente grado de refracción que aparece cuando la luz pasa de un medio a otro a través de estructuras transparentes, como pueden ser las bacterias. Aunque sea en poco grado, las diferentes estructuras tienen distinto índice de refracción, por lo que parte de la luz incidente se desvía, lo que se traduce en una diferencia de intensidad; aparecen unas estructuras más claras que otras. Por ello, este procedimiento tiene una utilidad particular en el estudio de las estructuras internas de los microorganismos, al aparecer en fases diferentes (cápsulas, esporos, gránulos intracitoplásmicos, etc.).

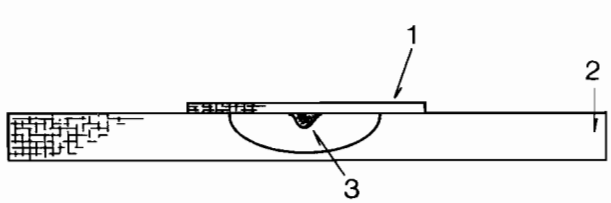


Fig. 6-1. Preparación en fresco sobre gota pendiente: 1) Cubreobjetos. 2) Portaobjetos. 3) Gota pendiente de la suspensión bacteriana sobre la concavidad del porta excavado.

A caballo entre el examen en fresco y los métodos de tinción se encuentra la *tinción negativa*, en la que se cambian las características del medio añadiendo tinta china u otras sustancias, que contrastan con las bacterias. Es uno de los sistemas más adecuados para la observación de la cápsula bacteriana.

Tinciones bacterianas

Facilitan notablemente el examen microscópico y permiten, además, el reconocimiento de ciertas estructuras externas. Pueden ser *coloraciones simples*, que en síntesis consisten en recubrir la superficie bacteriana con una solución de un colorante en alcohol y agua, y generalmente son de carácter básico (cristal violeta, fucsina, azul de metileno, etc.).

Resultan más útiles las coloraciones compuestas o *diferenciales*, en las que se emplean dos soluciones de colorantes, como los métodos de Gram y de Ziehl-Neelsen.

Existen, por último, *tinciones especiales*, de empleo más limitado. En unos casos pretenden aumentar el grosor bacteriano (impregnación con sales de plata) y, en otros, visualizar estructuras anatómicas, como flagelos, esporos o el cromosoma bacteriano.

Los métodos de *coloración fluorescente* precisan una fuente de luz ultravioleta, que, al utilizar longitud de onda más pequeña (0,2 µm), permite la resolución de partículas de 0,1 µm de diámetro, que, al ser teñidas por un fluorocromo (auramina, rodamina, naranja de acridina, etc.), absorben luz de una determinada longitud de onda para emitir una radiación luminosa de longitud de onda mayor y aparecen con una gran claridad sobre un fondo oscuro. Esta técnica se emplea para la observación directa, en los productos patológicos de *Mycobacterium tuberculosis*. Cuando se combinan estos fluorocromos con técnicas inmunológicas, surgen las reacciones de inmunofluorescencia (directa o indirecta) de gran utilidad diagnóstica.

Otros métodos de observación

Microscopio electrónico

Emplea como fuente de luz un haz de electrones que puede enfocarse mediante campos eléctricos o magnéticos, de forma similar a como en el microscopio óptico se dirige la luz visible a través de lentes. Estas «lentes magnéticas» cubren tres funciones, actuar de condensador enfocando la corriente de electrones hacia el objeto, amplificar la imagen del mismo y producir la imagen final que se fotografía o se observa sobre una pantalla fluorescente.

De esta forma, los 1.000× que se observan en el microscopio óptico o los 2.000× del microscopio de luz UV se incrementan teóricamente a 100.000× ó superiores. No obstante, este límite es muy difícil de alcanzar debido a defectos de enfoque magnético o aberraciones cromáticas o esféricas de los sistemas ópticos. Por ello se obtienen imágenes perfectas a los 10.000-50.000×.

La microscopia electrónica se ha revelado especialmente útil para conocer el tamaño y morfología de los virus y el reconocimiento de las diferentes estructuras que componen la célula bacteriana.

Existen diferentes formas de uso del microscopio electrónico en microbiología:

Sombreado con metales pesados (oro, cromo o platino). Estos se vaporizan sobre el objeto, a alto vacío. Parte del metal se deposita sobre la muestra y, al ser opaco a los electrones, se obtiene una microfotografía electrónica positiva de la imagen negativa, que presenta un aspecto tridimensional.

Cortes ultrafinos. Son cortes de hasta 20 μm de espesor e incluidos, lo que ha permitido conocer la estructura interna de las células y correlacionar estructura con función.

Tinción negativa. Se realiza con ácido fosfotúngstico, que tiene el mismo fundamento que la tinción negativa en el microscopio óptico. El medio y cualquier zona «hueca» en que penetre el fosfotungstato se vuelven opacos a los electrones, en tanto que las regiones ocupadas por material celular quedan transparentes. En definitiva se observan los detalles estructurales mejor.

Técnicas de réplica y de vaciado y sombreado. Permiten observar la configuración superficial de una muestra opaca a los electrones.

Los resultados obtenidos con la microscopia electrónica han de analizarse muy cuidadosamente por la presencia de artefactos ocasionados por la presencia de materiales extraños o por defectos en la técnica de desecación (las muestras han de estar completamente secas) o de la obtención de vacío.

Microscopio electrónico de barrido

Facilita la observación de la superficie de objetos relativamente grandes proporcionando imágenes tridimensionales. La muestra, recubierta de un metal pesado, se explora mediante un haz de electrones en uno y otro sentido. Los electrones dispersos por el metal producen una imagen en la pantalla.

Autorradiografía

Consiste en el revelado sobre una placa fotográfica de imágenes procedentes de estructuras que han sido marcadas previamente con material radiactivo. Se trata de un sofisticado método, que ha sido especialmente práctico, entre otros, para el conocimiento de la replicación del ADN.

Forma

Básicamente, las tres principales formas de las bacterias son: esférica, cilíndrica y helicoidal.

Se conocen con el nombre de cocos las formas esféricas. Se suelen presentar perfectamente redondeadas en ocasiones (estafilococos), si bien suelen mostrar variaciones morfológicas: ovoideas (estreptococos), lanceoladas (neumococos), reniformes (neisserias), etc.

Según la orientación de los planos de división de la bacteria y de la rapidez en separarse las células hijas, surgen distintos tipos de agrupaciones. Los grupos de dos se denominan diplococos y tienen gran interés el *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), que es grampositivo, y el género *Neisseria* (gonococo y meningococo), que se colorea en negativo por el método de Gram. Si los planos de división se mantienen sucesivamente paralelos entre sí, los cocos se reúnen en cadenas de 5-20-100 elementos (estreptococos). La agrupación en acúmulos irregulares, que semejan racimos de uvas, se conoce con el nombre de estafilococos. Cuando los planos de participación son perpendiculares entre sí, aparecen las tétradas (agrupación de cuatro cocos) y sarcinas (ocho cocos apiñados en paquetes cúbicos) (fig. 6-2).

Las formas cilíndricas, llamadas bacilos, pueden ser rectas como las enterobacterias (bacilo tífico), incurvadas como los vibriones (vibrión colérico) o ramificadas (género *Actinomyces*). La forma es variable y, al igual que se ha señalado para los cocos, puede sufrir ligeras desviaciones de acuerdo con los bordes (paralelos, convergentes, convexos, cóncavos, etc.) y los extremos (redondeados, afilados o en escuadra) (figs. 6-3 y 6-4).

Como la división de las bacterias tiene lugar por fisión binaria transversal, mediante un plano perpendicular al eje mayor del soma bacteriano, la agrupación de los bacilos sólo puede ser en parejas (diplobacilos) o en cadenas (estreptobacilos). No obstante, en algunas especies y géneros, como en *Corynebacterium*, al final de la división no hay una separación total de las células hijas, que se deslizan una sobre otra o giran entre sí por el punto de unión (residuos de pared) que actúa como bisagra. Aparecen entonces agrupaciones en empalizada o en L, V y letras chinas, respectivamente. Estos tipos de agrupación son muy típicos en algunos microorganismos, como en el bacilo diftérico, y tienen un gran valor taxonómico para su identificación (pleomorfismo).

Existe un grupo de bacilos grampositivos formadores de esporos, que de acuerdo con el tamaño (deformante o no del soma bacteriano) y la situación (central, subterminal y terminal) constituye un carácter útil para el diagnóstico.

Las bacterias helicoidales o espirales (figs. 6-4 y 6-5) para algunos se consideran formas bacilares que se han torcido como hélices. Sin embargo, hay que señalar la existencia de formas intermedias. Cuando existe una sola incurvación en un solo plano del espacio y se mantiene suficientemente constante para tener significado diferencial, se conforma el

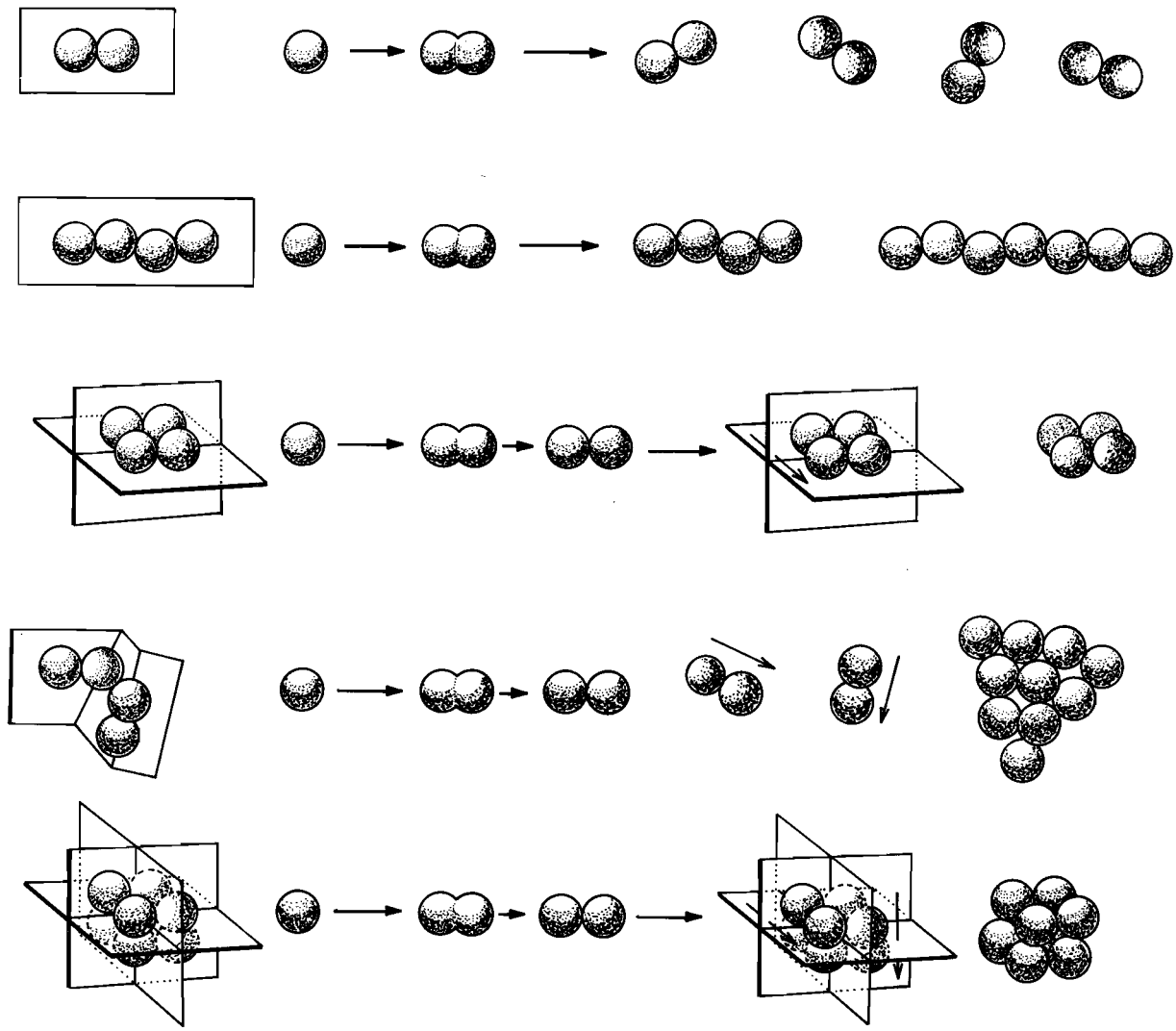


Fig. 6-2. Tipos de agrupación de bacterias esféricas (cocos). De arriba abajo: Diplococo (división por un plano, en parejas). Estreptococo (división por un plano sucesivamente paralelo: cadenas). Tétrada (planos perpendiculares: cuatro bacterias). Estafilococo (divisiones irregulares en los tres planos del espacio). Sarcinas (división sucesiva en los tres planos del espacio: agrupación cúbica).

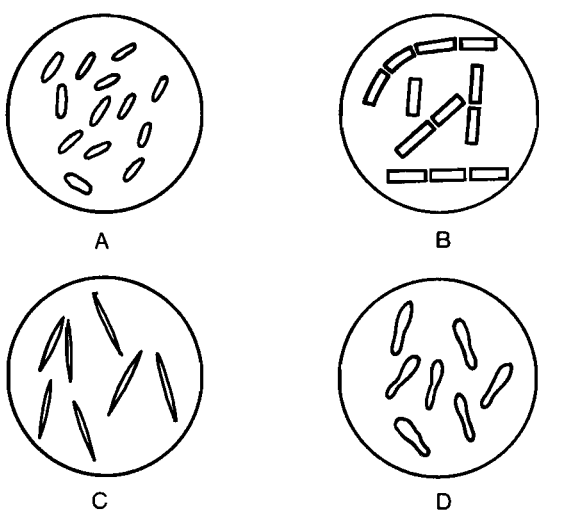


Fig. 6-3. Diferente morfología de las bacterias bacilares. A) Extremos redondeados. B) Extremos rectos. C) Extremos afilados. D) Extremos engrosados con agrupaciones en empalizada (género *Corynebacterium*).

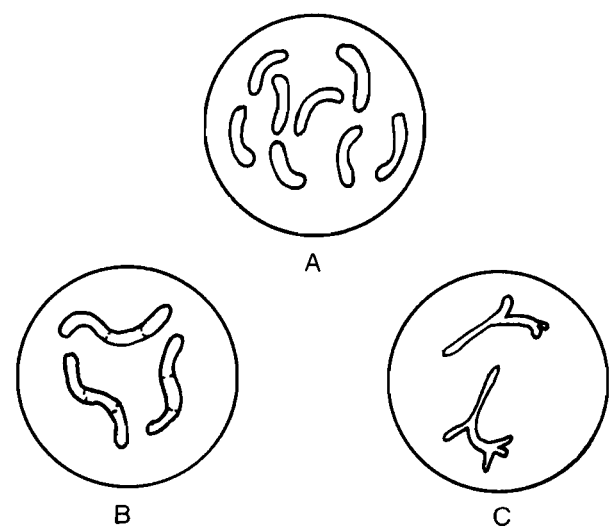


Fig. 6-4. A) Bacilos con una sola incurvación. B) Bacilos con varias incurvaciones en un solo plano del espacio. C) Bacilos ramificados (*Actinomyces*).

llamado género *Vibrio* (vibrión colérico). Cuando presentan varias incurvaciones, se separan dos grupos. El género *Spirillum* presenta una espiral rígida, en tanto que el orden de los espiroquetales está constituido por helicoides flexibles enrollados en forma de sacacorchos o tirabuzón. Dentro de este último grupo se separan dos tipos: Unas más largas (miden más de 100 µm) y gruesas, saprofitas, de vida libre y que viven en el suelo, en materia orgánica muerta o en el agua estancada. Otro grupo se integra por formas muy finas (0,2-0,5 µm de diámetro) y más cortas (10-15 µm). Este último grupo, según el número de espiras y su separación, se divide en los géneros: *Treponema, Borrelia* y *Leptospira*.

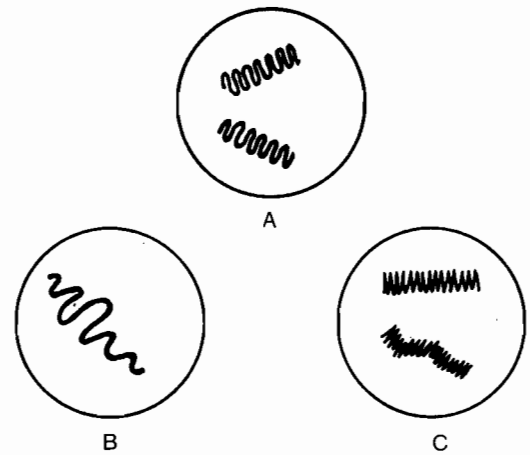


Fig. 6-5. Bacterias helicoidales: A) *Trepanema*. B) *Borrelia*. C) *Leptospira*.

Tamaño

El tamaño de los microorganismos es siempre pequeño, y debido a esta circunstancia las medidas empleadas habi-

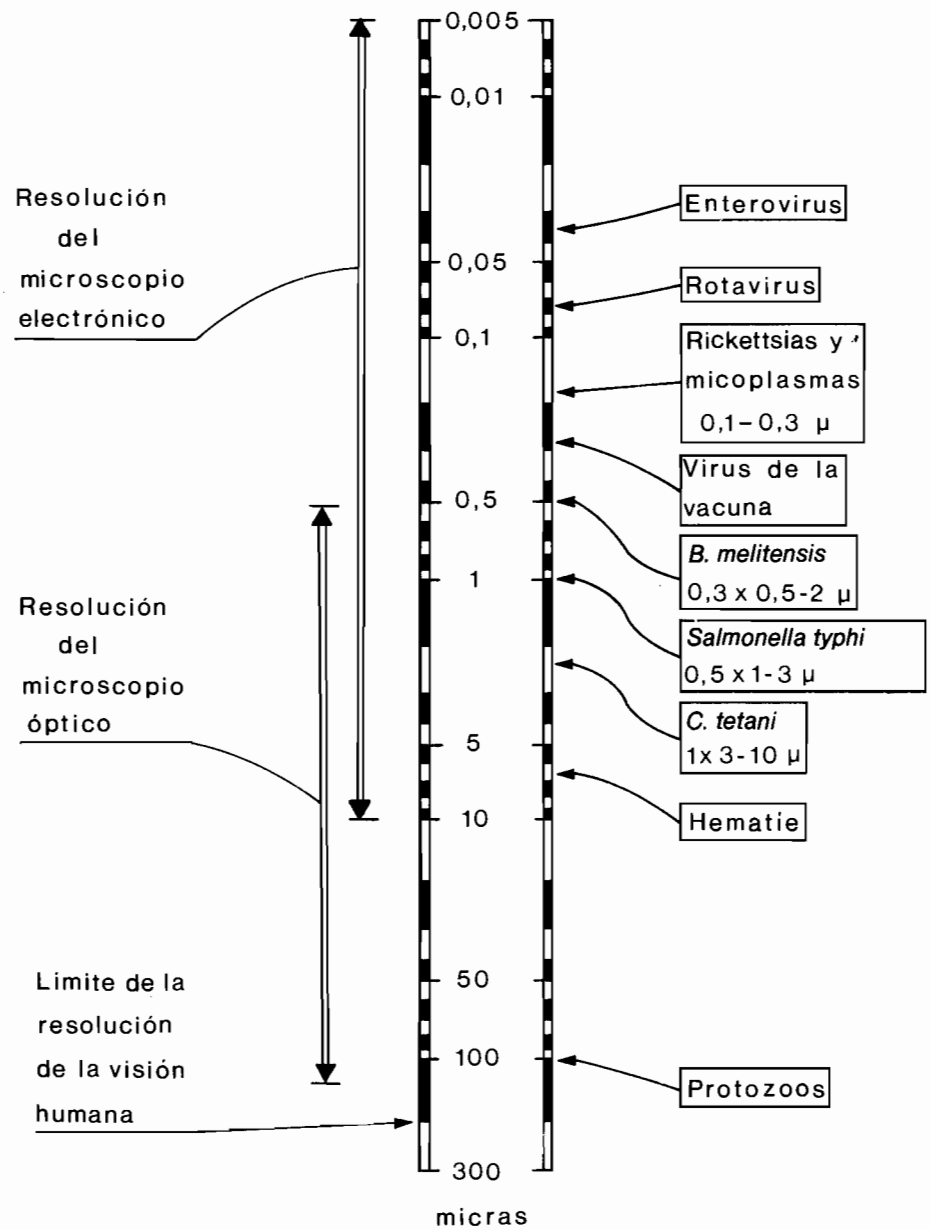


Fig. 6-6. Escala representativa del tamaño relativo de los diferentes microorganismos, con indicación de los límites de resolución del ojo humano y de los distintos tipos de microscopios.

tualmente para conocer la talla de la bacteria total o de sus diversas estructuras son las siguientes:

1 milímetro	1 mm
1 micrómetro (micra)	1 μm = 1×10^{-3} mm
1 nanómetro (milimicra)	1 nm = 1×10^{-6} mm
1 decinanómetro (Angstrom: Å)	0,1 nm = 1×10^{-7} mm

Las bacterias suelen medirse en micrómetros. Como término medio, un coco suele tener 1 μm de diámetro, los bacilos oscilan entre 1,5 y 6-8 μm de longitud y las espiroquetas, entre 10 y 15 μm. No obstante, el tamaño de las bacterias es una característica difícil de precisar, la mayor parte de las veces. Depende en gran medida del medio de cultivo, de la edad de éste (las formas jóvenes son más largas que las viejas) y de la retracción que provoca la coloración, la cual reduce a veces el tamaño a un tercio del original.

Dado que el ojo humano no tiene capacidad de resolución en tamaños inferiores a 0,1-0,2 mm, las bacterias precisan para su observación el microscopio óptico, que mediante combinaciones de lentes permite aumentar 1.000 veces o más el tamaño del objeto observado.

Las distintas posibilidades de observación y las capacidades de resolución de los diferentes aparatos han permitido conocer la talla de los microorganismos que esquemáticamente se representan en la figura 6-6.

DIVISION BACTERIANA

Las bacterias se reproducen por fisión binaria transversal o escisiparidad a gran velocidad, velocidad que depende tanto de la especie bacteriana como de las condiciones ambientales. En la práctica se expresa la velocidad de crecimiento en generaciones por hora, y una generación es la duplicación del número de bacterias. El tiempo de generación se define, pues, como tiempo requerido para que el número de bacterias se duplique.

Por término medio y para ciertas especies, el tiempo de generación en la fase activa de multiplicación es de 12 a 15 minutos, para la mayoría de las bacterias oscila entre los 20 y 60 minutos y en algunas bacterias pertenecientes al género *Mycobacterium (M. tuberculosis)*, en las condiciones más favorables, la división no se produce antes de 20 horas. En consecuencia, una sola bacteria, por ejemplo, *E. coli*, en un medio de cultivo apropiado, sin factores inhibidores, puede dar lugar en 24 horas a miles de millones de microorganismos.

La división bacteriana se inicia con modificaciones nucleares que preceden en escaso tiempo a la división celular y que no son más que una duplicación del ADN que asegura un reparto equitativo de material nuclear en las células hijas. La replicación del ADN es un proceso bidireccional, que se inicia en un punto de la molécula del ADN, que se denomina «origen». Ambos filamentos se mueven en dirección opuesta a lo largo del cromosoma y se replican simultáneamente. Así, por ejemplo, en *E. coli*, cuyo tiempo de generación a 37 °C en un medio normal es de 60 minutos, se requieren aproximadamente 40 minutos para la replicación del cromosoma. La iniciación de esta replicación precisa la síntesis de la proteína iniciadora, que se acumula en el punto «origen».

Los «orígenes» de la replicación pueden ser varios y van duplicando diferentes segmentos del genoma de forma simultánea, de manera que se obtiene una replicación completa en menos de 40 minutos.

Fig. 6-7. Desarrollo del septo de división de las bacterias. Formación del tipo centrípeto, típico en los microorganismos y que contrasta con lo que sucede en los procariotas.

La replicación del ADN no es más que una de las manifestaciones del desarrollo bacteriano, que está perfectamente coordinada con la división celular, al haberse demostrado que los mesosomas ponen en contacto el núcleo con la membrana citoplásmica.

Simultáneamente, a partir de la zona central de una y otra parte de la pared bacteriana, se forma un septo transverso, que a manera de un diafragma tiende a dividir la célula madre en dos hijas (fig. 6-7).

Durante ambos procesos, de duplicación del ADN y formación del septo, los mesosomas se complejizan y aumentan de tamaño. Semejan vagamente un centriolo y la actividad del huso de fibras en la mitosis de las células eucariotas. El mesosoma parece separar los dos replicados del cromosoma, de forma que cada uno de ellos se integra en cada una de las dos células hijas. Después, el mesosoma se separa del septo casi completamente formado y aparentemente se desintegra, convirtiéndose quizás en precursores moleculares que se reunirán de nuevo para otro ciclo de división. Muy probablemente, lo que sucede sea motivado por la autoduplicación del ADN, que desencadena aparentemente la síntesis de membrana entre los lugares de fijación de los dos cromosomas homólogos, que se desplazan por el crecimiento invaginante de la membrana transversa, dando origen al crecimiento centrípeto.

El fin de la replicación sobreviene cuando termina la formación del septo, que, si al principio es poco manifiesto y fino, más tarde presenta la misma estructura que la pared bacteriana.

El punto donde se inicia la división de la pared es variable y diferente para las bacterias grampositivas y las gramnegativas. Entre las primeras, el microorganismo mejor estudiado ha sido *Streptococcus faecalis* que se divide de acuerdo con el modelo esquemático representado en la figura 6-8.

La síntesis de la pared septal se inicia en determinadas zonas específicas de la propia pared, que son las bandas parietales.

Simultáneamente se inicia una segunda banda, alrededor del ecuador existente entre la primera banda y la periferia externa del coco. Además, se produce la replicación del material nuclear y el reparto entre las dos futuras células hijas. Por debajo de cada banda aparece un mesosoma, que se une por un fino pedúnculo a la membrana citoplásmica. Dicho mesosoma al tirar forma un septo con dos láminas, por donde se introduce el tabique parietal que se sintetiza *in situ*. El tabique parietal inicia el crecimiento centrípeto dividiendo totalmente el citoplasma, en tanto que el mesosoma aparece asociado con el material nuclear. Esta formación del tabique parece que está regulada por enzimas que intervienen en la síntesis, primero, y en la hidrólisis, después, de la mureína y se cree que la lisozima por su acción autolítica desempeña un papel importante.

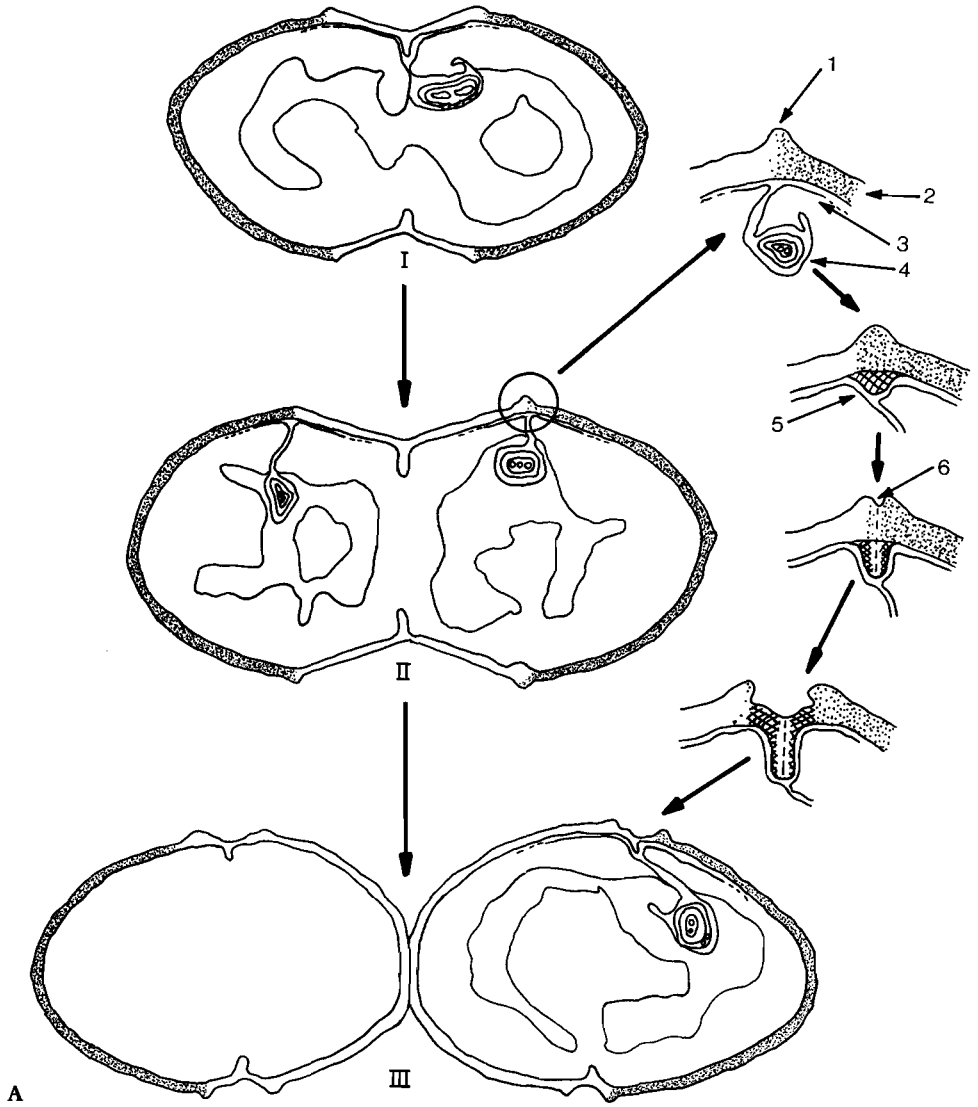


Fig. 6-8. A] Esquema de división de *S. faecalis:* 1] Banda parietal. 2] Pared celular. 3] Membrana citoplásmica. 4] Mesosoma. 5] Inicio de la síntesis del tabique parietal. 6] Protrusión de la pared para completar el tabique (explicación en el texto). B] Microfotografía electrónica.

En las bacterias gramnegativas no está claro el mecanismo, pero parece que la inserción de la nueva pared ocurre sobre varias zonas de la antigua y concretamente en la capa de peptidoglicano.

La separación de las dos células hijas tiene lugar, una vez formado completamente el tabique, mediante la actuación de amidasas, enzimas que se localizan en la zona próxima al *septum* e hidrolizan las uniones en la capa del peptidoglicano.

No obstante, el crecimiento de los microorganismos no implica necesariamente la escisión. Muchas especies bacilares crecen fácilmente en sentido longitudinal y la influencia de factores muy diversos puede impedir la división de la célula, aunque continúen la escisión del núcleo y el crecimiento de la pared, de la membrana y de los contenidos celulares. En consecuencia, se forman largos filamentos no tabicados, en lugar de células individuales.

Entre las causas inhibidoras de la división destacan las radiaciones ultravioleta, ciertos antibióticos, defectos nutricionales y las mutaciones. Estos factores y otros inhiben la formación de septos, pero no el crecimiento. El mecanismo exacto no está todavía perfectamente dilucidado.

A pesar de que la división bacteriana usualmente tiene lugar por fisión binaria transversal, existen de hecho otros tipos de división bacteriana, parecidos al de los hongos mediante la formación de ramificaciones, como sucede en el género *Corynebacterium* (bacilo diftérico) y en el bacilo tuberculoso, o incluso por gemación, como sucede en las levaduras. Numerosos investigadores han señalado otros sistemas de división más sofisticados como la formación de gonidias intracelulares, viables, que aparece en algunas bacterias del suelo. En el género *Mycoplasma* se produce la división mediante una germinación multipolar con segmentación posterior y formación de células hijas. Hay que señalar, no obstante, que estos tipos de reproducción son muy raros y sólo se producen en algunas clases de bacterias. Por último, lo que algunos autores consideran mecanismos de replicación, como la conjugación entre bacterias y la formación de esporos, no deben ser tomados como mecanismos propios de reproducción.

CRECIMIENTO BACTERIANO

El crecimiento bacteriano es un concepto macroscópico donde el incremento del número de microorganismos se hace más evidente que el aumento del tamaño, si bien estos dos fenómenos se suceden tan rápidamente que no son disociables.

El incremento depende fundamentalmente de la especie bacteriana, pero también del pH, composición del medio, temperatura de incubación, edad del cultivo, factores inhibidores, etc.

Su análisis puede realizarse mediante el estudio cuantitativo o el aspecto cualitativo que presentan las poblaciones bacterianas.

Estudio cuantitativo

Debe seguirse obligatoriamente sobre el crecimiento global de una población bacteriana homogénea, y el cultivo puro de una sola cepa permite obtener la curva de desarrollo bacteriano, relacionando la tasa de crecimiento en función del tiempo.

Por lo general se puede medir el crecimiento (multiplicación) de las bacterias, calculando el aumento numérico y teniendo en cuenta, por lo tanto, la magnitud de sus poblaciones.

Los recuentos obtenidos en los diversos períodos son valorados por varios procedimientos, aunque ninguno de ellos es totalmente exacto. Estos métodos pueden ser directos o indirectos y lo suficientemente precisos para poder ser aplicados en la mayoría de los propósitos de la microbiología.

Métodos directos. Permiten una estimación aproximada del número de bacterias. Tienen el inconveniente de que concentraciones demasiado altas o demasiado bajas disminuyen la precisión, aparte el posible defecto de poder contabilizarse bacterias muertas.

Se puede utilizar una cámara de recuento similar a la empleada para contar hematíes, donde, conocido el volumen depositado, se puede determinar el número de organismos por mililitro.

Resultan métodos más sofisticados los recuentos obtenidos en filtros de membrana y el empleo de contadores electrónicos (Coulter-counter), en los que, con un par de electrodos, se detecta el paso de una partícula por el efecto que ésta produce sobre la impedancia. El uso de este último procedimiento tiene el inconveniente de que cuenta no sólo las células viables, sino las totales, y, además, en bacterias que permanecen adheridas después de la división (*Streptococcus*) o en las que se agregan fácilmente, los resultados son poco fiables.

Más habitual es hallar el número de bacterias viables sembrando diluciones de un cultivo sobre medios sólidos en placa y proceder al recuento de colonias después de la incubación (habitualmente una bacteria da lugar a una colonia). El cálculo es bastante preciso, pero se trata de un método que es válido sólo para cultivos muy poco densos.

Métodos indirectos. Son empleados para determinaciones de masas celulares.

El estudio del volumen total relacionado con el volumen medio de cada bacteria tiene el mismo fundamento que la determinación del valor hematócrito.

Los métodos turbidimétricos (colorímetro fotoeléctrico, espectrofotómetro) por su rapidez, sencillez y fiabilidad son los más utilizados, a pesar de estar sometidos a errores debidos a variación de tamaño, densidad bacteriana, etc. Los datos que se obtienen no se refieren a número de bacterias, sino a incrementos o disminuciones de la masa bacteriana.

Los métodos químicos que determinan el nitrógeno total (microkjeldahl) y la determinación de los ácidos nucleicos y de enzimas específicas se emplean como base de mediciones del crecimiento global. De forma similar, puede ser útil en determinadas circunstancias la valoración del peso seco y, más concretamente, su aumento en una fase determinada.

Curva de crecimiento bacteriano

El crecimiento de las bacterias sobre un medio de cultivo líquido es claramente exponencial, y la determinación de este crecimiento cuantitativo se puede representar mediante una curva en la que se distinguen las siguientes fases o períodos (fig. 6-9).

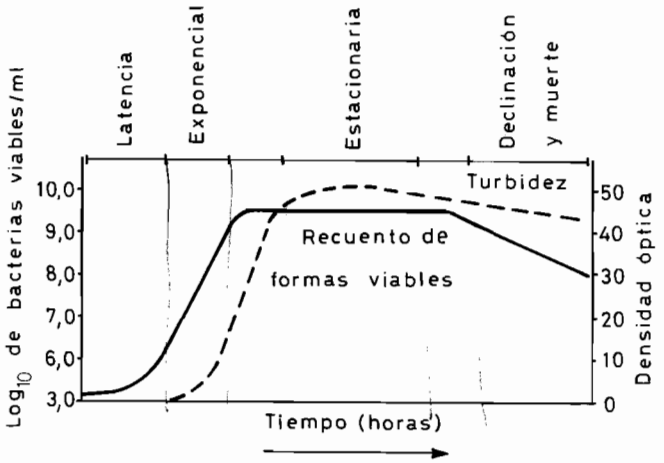


Fig. 6-9. Distintas fases de la curva de desarrollo bacteriano.

Fase de latencia. Es el tiempo necesario para adaptación de las bacterias al nuevo medio donde se siembran. Durante este período, los microorganismos en estado latente aumentan su actividad metabólica, se embeben en agua, se incrementa la tasa de ARN, principalmente ribosómico (esencial para la síntesis de nuevas proteínas bacterianas), y se producen posiblemente enzimas inducibles para utilizar las nuevas sustancias que se les ofrecen. En definitiva, hay un aumento de volumen, pero no división, dado que no hay replicación de ADN cuyos niveles permanecen constantes durante toda la fase.

Si las bacterias sembradas procediesen de un cultivo similar, con los mismos sustratos y en fase logarítmica, prácticamente no habría solución de continuidad y la fase de latencia se acortaría extraordinariamente. Por el contrario, sufriría una serie de retrasos indefinidos en el caso de existir oxígeno en un cultivo de anaerobiosis, así como en la aireación forzada que impidiera la acumulación de CO_2 o la adición de sustancias antibacterianas, como sulfamidas, antibióticos, colorantes, etc.

Cuando se usa como inóculo células en estado metabólico latente, son factores de importancia crítica para iniciar el crecimiento: el pH, la temperatura, la presencia de concentraciones adecuadas de oxígeno (potencial de oxidación-reducción) y concentraciones favorables de CO_2. Deben existir también ciertas sustancias nutritivas, en especial aquellas que las células producen lentamente o con dificultad por sí mismas.

Si el nuevo medio contiene nutrientes que no son asimilables por la mayoría de las bacterias del inóculo, pero posiblemente sean utilizables por una o dos células mutantes, las células no mutadas morirán y aparecerá un crecimiento perceptible después de un retraso inusitadamente largo.

Fase de desarrollo exponencial o logarítmica. Una vez iniciado el desarrollo, se manifiesta pronto por la ascendente inflexión de la curva, llamada fase de crecimiento acelerado. Durante este período precoz, cuando la división es lenta, el tamaño de las células es grande; casi el máximo alcanzable por las respectivas especies. Este hecho es debido, probablemente, a la imbibición de agua con la hinchazón consiguiente y al comienzo de la actividad metabólica.

Durante la fase de crecimiento acelerado, el tiempo requerido para que cada célula se divida va disminuyendo gradualmente y la velocidad de división alcanza un máximo, determinado por la especie del microorganismo y las condiciones de crecimiento.

Cuando las bacterias se multiplican a velocidad constante y exponencial, se alcanza la auténtica fase de desarrollo.

Esta fase de desarrollo logarítmico está mediatizada por una serie de factores limitantes intrínsecos, como la velocidad de difusión osmótica, y factores extrínsecos diversos, como la concentración del sustrato, presencia de oxígeno, etc. La temperatura es asimismo un factor importante, ya que para las bacterias patógenas el óptimo de crecimiento se consigue a los 37 °C y para las levaduras y otros hongos, a 25 °C.

Durante esta fase se alcanza el valor más alto en el número de generaciones por hora. Además, el recuento de células viables es prácticamente idéntico al de células totales, al tratarse de una población joven, en que el número de bacterias muertas es mínimo.

Por otro lado, la actividad metabólica es máxima, el tamaño medio bacteriano se reduce, las estructuras (pared, membrana, etc.) presentan, además, un espesor mínimo, la sensibilidad a los agentes físicos, químicos y antimicrobianos y fagos es óptima en esta fase, y las características bioquímicas y fisiológicas son más evidentes.

Debido a estos atributos fisiológicos, adquiridos por las bacterias en esta fase, si se realiza un subcultivo en caldo, a temperatura adecuada, el crecimiento continúa a ritmo exponencial sin apenas fase de latencia.

Si el crecimiento exponencial siguiese ininterrumpidamente, en poco tiempo se llegaría a constituir una masa sólida de bacterias, lo que no sucede al aparecer numerosos factores que interfieren en dicha multiplicación.

Al cabo de pocas horas (o días) del inicio de la fase logarítmica, los microorganismos encuentran dificultades para continuar la multiplicación. Los nutrientes se agotan, las materias residuales tóxicas se acumulan, el pH se modifica, los aceptores de hidrógeno desaparecen, las transferencias de energía disminuyen y las células se obstaculizan mutuamente. La tasa de división celular comienza a declinar y hay microorganismos que mueren en número creciente, de tal modo que el progreso numérico de las células vivas se retarda considerablemente. Este proceso se designa como fase de aceleración negativa del crecimiento.

Se ha estudiado el desarrollo de esta fase mediante adiciones de un medio fresco, sin eliminar los residuos o las células muertas. La población bacteriana aumenta con cada adición de nutrientes, pero la forma global de la curva de crecimiento se desarrolla como siempre, y cesa pronto el crecimiento exponencial.

Fase estacionaria. Hay un crecimiento desequilibrado debido a que los componentes bacterianos (ADN, ARN, proteínas, etc.) se sintetizan a tasas diferentes. Se produce una estabilización, de modo que el número de células que se reproducen equivalen a las que mueren. Puede ser debido a la disminución de factores esenciales para la respiración o a falta de elementos nutritivos del sustrato. El acúmulo de productos finales del metabolismo, ácidos orgánicos o alcoholes obtenidos a partir de la degradación de los carbohidratos, y enzimas autocatalíticas del tipo de las proteasas y de las nucleasas son factores dignos de tenerse en cuenta al actuar como inhibidores. A veces, la causa limitante es la concentración de glucosa; por ello, su adición a un medio

tamponado para neutralizar las pequeñas cantidades de ácido producido puede estimular un nuevo ciclo de desarrollo.

Fase de declinación o muerte. Al volverse las condiciones del medio más adversas cada vez, las bacterias se reproducen más lentamente y predominan las células muertas. Aparece una fase de declinación exponencial similar, pero en sentido contrario, a lo que sucede en la fase logarítmica.

En la mayor parte de las bacterias, el proceso se desarrolla en 72 horas, de forma que al final de éstas el número de células viables es muy pequeño, si bien la esterilidad total del cultivo puede no lograrse hasta transcurridas varias semanas o meses y depende, entre otros factores, del tipo de microorganismo, pH, presencia o ausencia de determinados iones, etc.

Para reconocer la muerte bacteriana, en la que se pierde toda capacidad metabólica y de división, es necesario proceder a una resiembra sobre medios sólidos y comprobar la ausencia de colonias tras la incubación pertinente. Este efecto se aplica constantemente en la práctica para reconocer cuándo un antimicrobiano es bacteriostático (que inhibe simplemente el desarrollo de las bacterias) o bactericida (si produce la lisis bacteriana), según la aparición o no de crecimiento cuando se resiembra en un medio de cultivo nuevo y adecuado. Igualmente sirve para comprobar la inocuidad de las vacunas elaboradas con bacterias muertas.

Diauxia

En el estudio de la curva de crecimiento se puede observar a veces una doble curva, que es traducción del fenómeno denominado «diauxia» por Monod. Tiene lugar cuando se cultivan gérmenes en presencia de dos sustratos, por ejemplo, los azúcares glucosa y xilosa. Primero, la curva de crecimiento corresponde al desdoblamiento de la glucosa por las enzimas constitutivas y, tras entrar en una nueva fase de latencia, hay una puesta en marcha de las enzimas adaptativas capaces de iniciar el ataque del segundo sustrato y que corresponde a la otra parte de la curva de crecimiento (fig. 6-10).

Expresión matemática de la curva

En la fase exponencial de crecimiento, la tasa de incremento del número de bacterias, o de la masa bacteriana, en un tiempo determinado es proporcional a la masa presente y puede representarse por la siguiente ecuación:

$$\frac{dB}{dT} = KB$$

donde B es el número de bacterias en el momento inicial; dB/dT es el cambio en el número de bacterias (o masa bacteriana) en un período de tiempo, y K representa el crecimiento instantáneo (tasa constante de crecimiento en un momento dado en el cultivo, p. ej., el incremento relativo por unidad de tiempo).

$$\text{Así, } dB/B = KdT$$

La tasa constante de crecimiento (K) puede representarse por la siguiente ecuación:

$$K = \frac{\ln 2}{Tg} = \frac{0{,}69}{Tg}$$

en la que In2 equivale a la relación $\left(\frac{\ln B_t}{\ln B_0}\right)$ entre la cifra de bacterias a un tiempo determinado (B_t) y la masa a tiempo cero (B_0) y Tg es el tiempo de generación o tiempo requerido para que el número de bacterias se duplique (se expresa en horas).

El término K puede determinarse asimismo mediante la pendiente de la curva de crecimiento durante la fase exponencial. Se expresa en logaritmos en base 2, dado que son más idóneos que los convencionales en base 10, para establecer la relación lineal entre el logaritmo de la masa bacteriana y el tiempo.

$$K \text{ (pendiente)} = \frac{\log_2 B_t - \log_2 B_0}{T} \qquad T = t_1 - T_0$$

La representación gráfica se muestra en la figura 6-11.

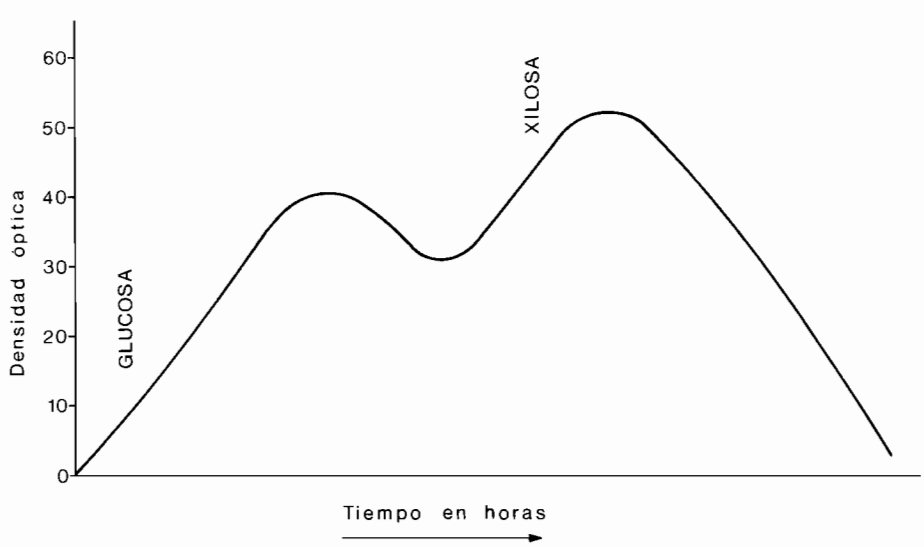


Fig. 6-10. Curva de diauxia.

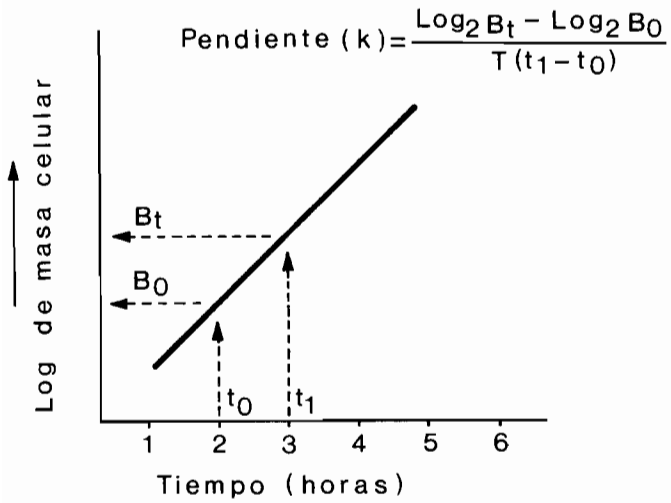


Fig. 6-11. Determinación de la tasa de crecimiento (K), mediante la obtención de la pendiente, de un cultivo en fase exponencial.

De acuerdo con la primera fórmula y conociendo el tiempo de generación, es fácil hallar la tasa de crecimiento constante.

Generación

Si las bacterias se reproducen por fisión binaria, en la segunda generación tendremos el doble número de individuos a partir de un número *(b)* inicial y así sucesivamente, y se obtiene un número final de individuos (B), con arreglo a una multiplicación de tipo exponencial. Si dicha curva se representa sobre un papel semilogarítmico, aparece una línea que compensa los errores del recuento. Los puntos caen sobre una recta cuando se está en la fase exponencial de crecimiento, y el tiempo de generación corresponde a la pendiente de aquélla.

Así pues, si se considera el tiempo de generación (G) como el intervalo de tiempo necesario para que se duplique el número de organismos, y t es el tiempo transcurrido a partir del tiempo inicial y r, la tasa de crecimiento en divisiones por hora, que a su vez es el inverso del tiempo de generación, resulta que:

El número total de individuos (B) a partir del número inicial (*b*), considerado como una división binaria a la primera generación, sería $B = b \cdot 2$.

Como $n = r \cdot t$ (tasa de crecimiento × tiempo transcurrido), $B = b \cdot 2^{rt}$.

Aplicando logaritmos resulta: $\log_2 B - \log_2 b = rt$, y como se ha expresado que el tiempo de generación (G) es el recíproco de la tasa de crecimiento 1/r, se obtendrá la presente fórmula:

$$G = \frac{t}{\log_2 B - \log_2 b} = \frac{t}{0{,}30\,(\log B - \log b)}$$

Esta última fórmula en el caso de logaritmos en base 10.

El tiempo de generación es variable de unas especies a otras: Para *Proteus* sp. a 37 °C y en medio de cultivo apropiado, sería de 17 minutos; en *Staphylococcus aureus*, 30 minutos; para *Mycobacterium tuberculosis* (en medios sintéticos) y *Treponema pallidum* (en testículo de conejo), el tiempo de generación es de varias horas.

Cultivo continuo

El crecimiento bacteriano en el medio de cultivo provoca alteraciones en el medio ambiente como consecuencia de la oxidación de los nitratos, acumulación de productos resultantes del metabolismo, cambios en la tensión de oxígeno, etc., que modifican las características y, en consecuencia, el comportamiento de la bacteria.

Estas modificaciones pueden soslayarse mediante un sistema de cultivo continuo, que mantenga las constantes, de forma que el crecimiento exponencial se produzca por tiempo indefinido. El método más simple consiste en añadir de una forma continuada medio nuevo, para lo cual se han diseñado dispositivos automáticos que mantienen aquel flujo a la velocidad requerida. El aparato recibe el nombre de quimiostato o *bactogen*, que controla no sólo la densidad, sino la tasa de crecimiento (fig. 6-12).

El medio estéril contiene diferentes nutrientes, de los que uno de ellos, que es el nutriente esencial (fuente de C, N, etc.), es limitante y permite sólo el desarrollo de un número determinado de bacterias. Como el flujo del medio nuevo es constante, la población del quimiostato continúa creciendo y, de esta forma, la velocidad del desarrollo será tanto mayor cuanto más rápida sea la velocidad del flujo. La densidad del cultivo se determina por la concentración del nutriente limitante en el medio que entra. A medida que se va añadiendo medio fresco al quimiostato, por una válvula se elimina una cantidad equivalente a la añadida, con objeto de que el volumen permanezca asimismo fijo.

Este sistema de obtención de cultivos continuos puede aplicarse para investigar la influencia de diferentes condiciones ambientales sobre el crecimiento, la síntesis molecular de diferentes estructuras anatómicas de la bacteria y las condiciones de crecimiento.

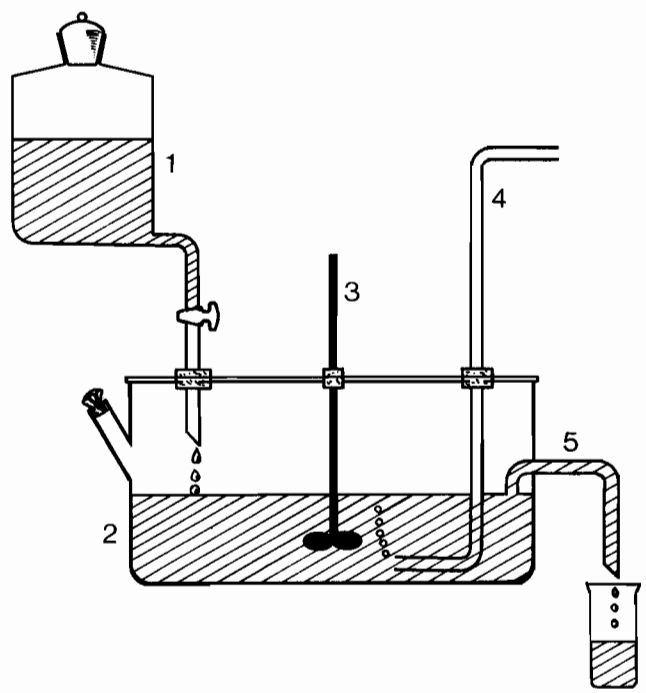


Fig. 6-12. Quimiostato: 1) Recipiente con medio nuevo. 2) Cámara de cultivo con desarrollo continuo. 3) Agitador. 4) Conducción de flujo de aire estéril. 5) Rebosadero.

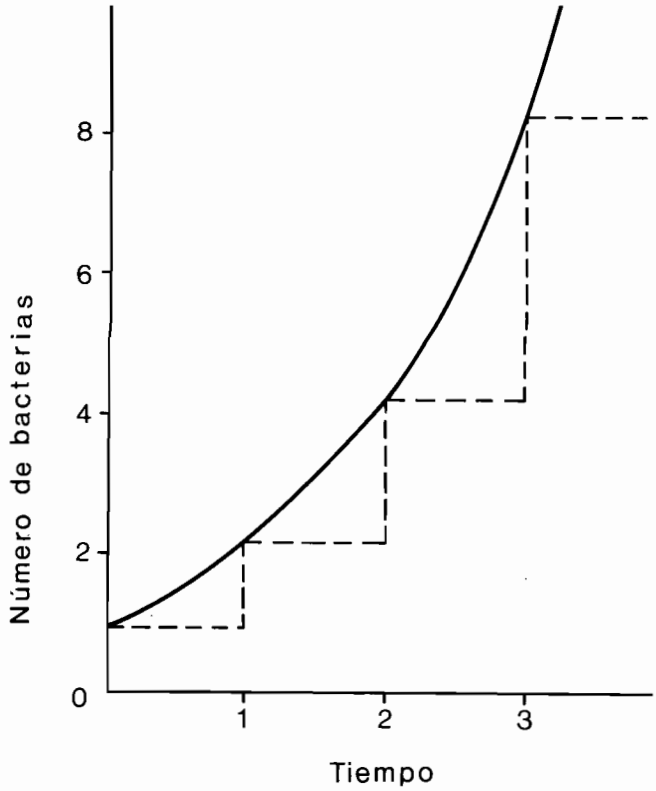


Fig. 6-13. Representación aritmética del incremento de bacterias de forma asincrónica (línea continua) y el hipotético crecimiento sincrónico (trazo discontinuo), en la fase de desarrollo exponencial.

Crecimiento sincrónico

En los medios de cultivo habituales donde se produce el desarrollo bacteriano, no todas las células se suelen dividir al mismo tiempo, sino solamente una pequeña parte de la población, de manera que en un determinado momento las bacterias pueden encontrarse en cualquier fase del ciclo de la división. Por esta razón, para diferentes estudios sobre comportamientos bioquímicos, especialmente durante los fenómenos de división celular, es necesario disponer de una suspensión bacteriana en la que cada elemento se divida sincrónicamente en el mismo período de tiempo.

El crecimiento sincrónico en poblaciones grandes puede en ocasiones obtenerse, separándolas mediante gradientes de densidad obtenidos por centrifugación (las bacterias más pequeñas) o por filtración a través de filtros de membrana de nitrocelulosa, invirtiendo posteriormente el filtro y resuspendiendo las bacterias retenidas en un medio de cultivo nuevo a 37 °C de temperatura. Durante dos o tres generaciones, estas bacterias seleccionadas se dividen sincrónicamente para después volver de nuevo al cultivo asincrónico (fig. 6-13).

Crecimiento equilibrado y desequilibrado

Durante el crecimiento exponencial, todos los constituyentes bioquímicos van siendo sintetizados a las mismas velocidades relativas, situación que se denomina crecimiento equilibrado. La figura 6-14 muestra lo que ocurre a las velocidades de crecimiento y síntesis de ARN, ADN y proteínas, si se transfiere el cultivo a un medio diferente, en el que puede haber crecimiento a mayor velocidad que antes (este hecho se denomina «enriquecimiento rápido» o *step up*). Inmediatamente después de la transferencia al medio enriquecido, aumenta la velocidad de la síntesis de ARN, y algo más tarde lo hacen también las de ADN y proteínas. La velocidad de reproducción bacteriana también se incrementa después de un período largo, y, con el tiempo, las velocidades de síntesis de todos los componentes quedan de nuevo en equilibrio.

En el período inicial, después de la transferencia al nuevo medio, existen condiciones adecuadas para un crecimiento desequilibrado, puesto que no todos los constituyentes celulares están siendo sintetizados a la misma velocidad.

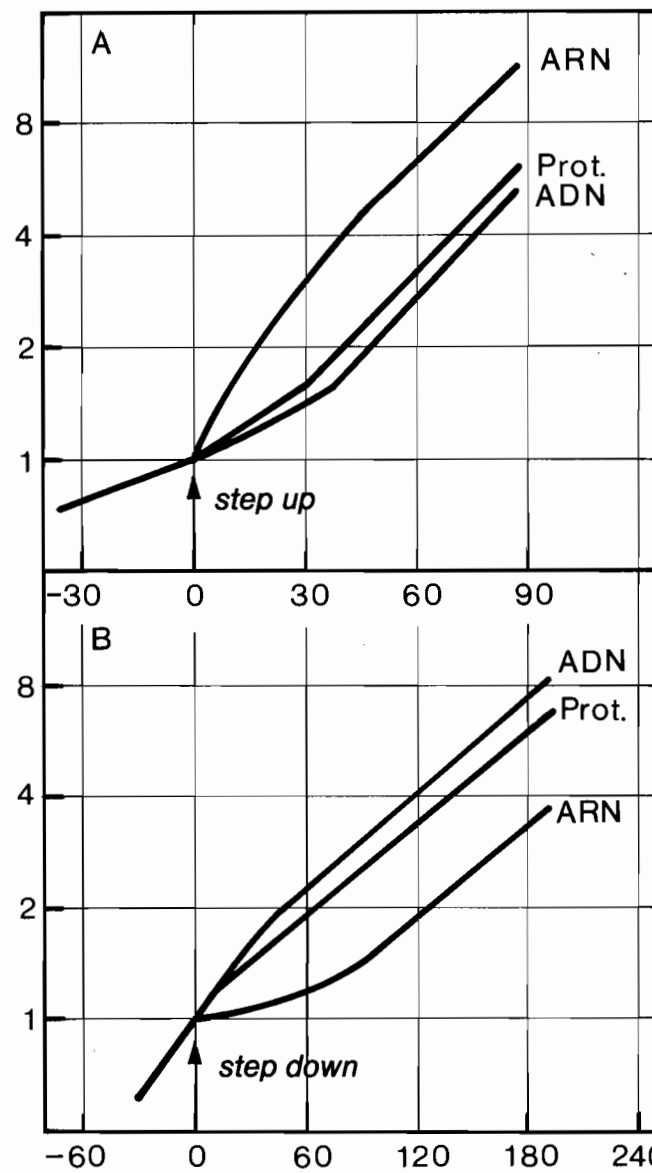


Fig. 6-14. Tasas relativas de síntesis de ARN, proteínas y ADN en *E. coli* transferida a un medio enriquecido, *step up* (parte superior), o en condiciones de empobrecimiento súbito, *step down* (parte inferior).

Si se lleva a cabo el experimento inverso (un «empobrecimiento súbito» o *step down*), la velocidad en la síntesis de ARN disminuye inmediatamente, en tanto que la síntesis del ADN y proteínas, y la división bacteriana continúan a la velocidad anterior (más rápida) y disminuyen posteriormente. Estos resultados sugieren que, puesto que es la síntesis de ARN la primera que cambia durante las condiciones de enriquecimiento y empobrecimiento rápidos, dicha síntesis puede ser el factor clave que controla la velocidad de crecimiento.

Aunque en la célula existen varios tipos de ARN, la mayor fracción es la del ARN ribosómico. Durante las condiciones de «enriquecimiento rápido», hay un aumento de velocidad de síntesis de ribosomas que conduce a un mayor número de éstos por célula y, puesto que la síntesis proteica se produce en los ribosomas, se comprende que la velocidad de la síntesis proteica también se incremente.

Estudio cualitativo

Prácticamente, todas las bacterias, salvo *M. leprae*, *Treponema pallidum*, las rickettsias y alguna otra, pueden desarrollarse sobre medios de cultivo artificiales, líquidos y sólidos.

El resultado del crecimiento en medios líquidos da lugar a una opacidad en la masa del medio de cultivo, que se traduce por enturbiamiento. A veces se observan ondas «*moiree*», depósito pulverulento, granuloso o viscoso, y en otras ocasiones el líquido aparece coloreado con tonos diferentes debido a la producción por parte de la bacteria de pigmentos difusibles (*Pseudomonas aeruginosa*).

La siembra sobre medios sólidos, en superficie, da lugar a la formación de colonias, masa constituida por muchos millones de bacterias que se aprecia a simple vista. El tamaño, así como el aspecto, es bastante constante para cada género y especie bacterianos y de ahí que puedan utilizarse como características diferenciales, a la hora del diagnóstico, las siguientes cualidades:

Tamaño. Pueden ser «puntiformes», de alrededor de 1 mm de diámetro o menor; medianas, de 1 a 2 mm de diámetro; grandes, de 4 a 6 mm, y extendidas en velo, invadiendo toda la superficie del medio de cultivo.

Forma. Se tendrán en cuenta tanto los bordes (enteros, lobulados, dentados, rizoides, etc.) como el espesor (planas, elevadas, semiconvexas, semiesféricas, etc.).

Superficie. Puede ser lisa, rugosa, filamentosa, mucosa, seca, papilada, umbilicada, etc. Quizás el carácter diferencial más importante estribe en la separación de las colonias lisas y rugosas. Las primeras traducen la presencia de cápsula u otros componentes superficiales, que le dan el aspecto compacto. Suele relacionarse con la virulencia, que se pierde cuando la bacteria sufre la variación S-R (lisa-rugosa).

No obstante, bacterias como el bacilo del carbunco (*B. anthracis*) y el de la tuberculosis (*M. tuberculosis*), cuando se desarrollan en medios sólidos, producen colonias rugosas habitualmente virulentas y cuyo comportamiento es el inverso del caso anterior.

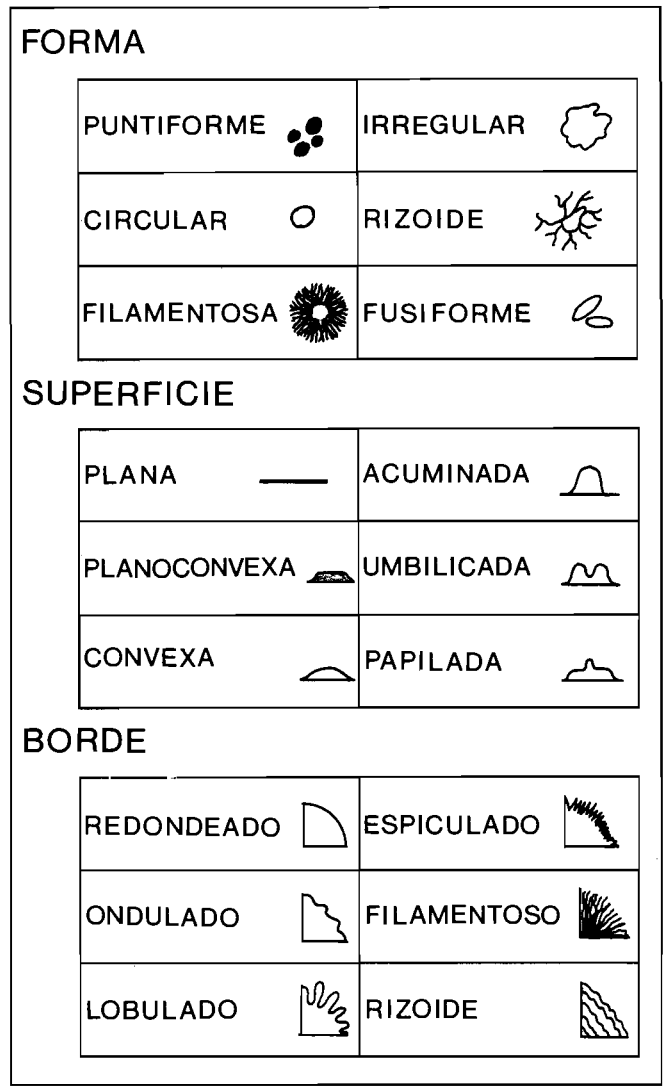


Fig. 6-15. Representación esquemática de la forma, superficie y bordes de diferentes tipos de colonias bacterianas desarrolladas sobre medios sólidos.

Consistencia. Puede ser dura y seca, friable y viscosa, y cremosa en ocasiones. La mayoría producen colonias de consistencia mantecosa, fácilmente arrastrables por el asa de siembra.

Transparencia y coloración. Son muy variables. Pueden ser transparentes, semitransparentes, translúcidas y opacas. En ocasiones aparecen pigmentadas, con una coloración blanca, amarilla, roja u otras por la elaboración de pigmentos por la propia bacteria, que al ser lipófilos e hidrófobos no salen al exterior del medio de cultivo. Entre estas colonias coloreadas destacan especialmente las amarillas o blancas del género *Staphylococcus* o las rojas en algunas especies de *Serratia*.

Otros caracteres. Por último no es infrecuente que la presencia de diferentes sustancias en el medio de cultivo influya en el aspecto de las colonias. Precisamente, en el análisis de estas variaciones se basan los cultivos diferenciales.

Así, en los medios con sangre, puede aparecer un halo claro en torno a la colonia por la acción de hemolisinas, lo que constituye un carácter taxonómico importante. En los medios con azúcares, a los que incorpora un indicador, la fermentación de aquéllos altera el pH del medio y cambia la coloración del indicador, modificando el de la colonia y su entorno. Este carácter permite que se produzca el aislamiento de una determinada especie que pueda hallarse en cultivo mixto.

En el caso de bacterias anaerobias, la siembra se hace en profundidad sobre medios repartidos en tubos largos y las colonias presentan aspectos muy variables (puntiformes, lenticulares, bi o trilobuladas, algodonosas, estrelladas, arborescentes, etc.). Se puede, además, detectar la producción de gas por la fragmentación de la masa sólida contenida en el tubo.

Algunos de estos aspectos morfológicos de las colonias bacterianas se representan esquemáticamente en la figura 6-15.

BIBLIOGRAFIA

Davis, B. D.: Bacterial nutrition and growth. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed., 59-70. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Freeman, B. A.: Burrows, Textbook of Microbiology, 21.ª ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1979.

Jawetz, E.; Melnick, J. L., y Adelberg, E. A.: Manual de Microbiología Médica, 9.ª ed. El Manual Moderno, México, 1981.

Loiseau-Marolleau, M. L.: Les bactéries: Anatomie fonctionnelle, physiologie, variabilité. En Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Maladies infectieuses et parasitaires. Editions Techniques, Paris, 8000 A^{10}, 1975.

Rogers, H. J.: Bacterial growth and the cell envelope. Bacteriol. Rev., 34, 194-214, 1970.

Slater, M., y Schaechter, M.: Control of cell division in bacteria. Bacteriol. Rev., 38, 199-221, 1974.

Smith, A. L.: Microbiology and pathology. C. V. Mosby, Saint Louis, 1980.

Volk, W. A.: Essentials of Medical Microbiology. J. B. Lippincott, Philadelphia, 1978.

Willet, H. P.: Physiology of bacterial growth. En Davis, M. D.; Dulbecco, R.; Elsen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Zinsser Microbiology, 17.ª ed., 76-105. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Capítulo 7

Fisiología bacteriana

Gonzalo Piédrola-Angulo

NUTRICION Y METABOLISMO

NUTRICION

Para que una bacteria pueda vivir y reproducirse, es decir, ser capaz de llevar a cabo sus procesos de biosíntesis, debe disponer de los nutrientes necesarios. En esquema, necesita: elementos energéticos y constitutivos; elementos específicos, que son variables en cada bacteria, y condiciones físico-químicas adecuadas.

Elementos energéticos y constitutivos

Los más importantes son:

Agua. Representa el 80-90 % del peso de la bacteria.

Iones minerales. Pueden citarse PO_4^{---}, SO_4^{--}, Ca^{++}, Na^+ y Cl^-, que, en general, se requieren en grandes cantidades. Además, muchos seres vivos pueden necesitar otra serie de iones, en cantidades mínimas, oligoelementos, tales como manganeso, cinc, cobre, cobalto, níquel, boro, etc. La gran mayoría de estos oligoelementos, que se necesitan en pequeña cantidad, se encuentran en forma de impurezas en las sales de los macroelementos y pasan a las soluciones nutritivas a partir del material de vidrio o de las partículas de polvo. En general, las sales minerales sirven para mantener el equilibrio iónico, como elementos metabólicos de grupos enzimáticos, pigmentos, etc.

Carbohidratos. Son los alimentos energéticos más importantes y pueden proceder de diversas fuentes, simples o complejas.

Proteínas. Pueden proceder del medio (proteínas, aminoácidos, sales de amonio, nitratos, nitritos, nitrógeno atmosférico) o indirectamente de las reacciones de desaminación o nitratorreducción. Su principal forma de utilización es a partir de iones amonio.

Los lípidos pueden también ser utilizados como fuentes de energía.

Según las distintas necesidades nutritivas y energéticas, las bacterias se pueden clasificar en diversos *tipos tróficos* según tres criterios (tabla 7-1): el origen de la fuente de energía, la fuente de carbono utilizada y el aceptor final de electrones, como más tarde se verá.

Fuente de energía

Existe un grupo de organismos capaces de utilizar las radiaciones solares (energía luminosa), como fuente de energía para su crecimiento. Reciben el nombre de bacterias *fototrofas*. Dichos organismos son capaces de utilizar dicha energía luminosa y transformarla en química (ATP), con la aparición de un poder reductor (fig. 7-1).

En el caso de los microorganismos, si el RH_2 es un compuesto inorgánico (como el azufre), reciben el nombre de fotolitotrofos. Si es un compuesto orgánico, reciben el nombre de fotoorganotrofos.

Si la fuente de energía no es la luminosa, sino de carácter químico por reacciones de óxido-reducción, se habla de bacterias *quimiotrofas*. Igualmente, si el radical dador de electrones es un compuesto mineral, se denominan quimiolitotrofas y, si es un compuesto orgánico

Tabla 7-1. Tipos tróficos en las bacterias

Según fuente de energía
Fototrofas
Fotolitotrofas
Fotoorganotrofas
Quimiotrofas
Quimiolitotrofas
Quimioorganotrofas
Según fuente de carbono
Autotrofas
Heterotrofas
Según el aceptor final de electrones
Oxígeno
Otros compuestos inorgánicos

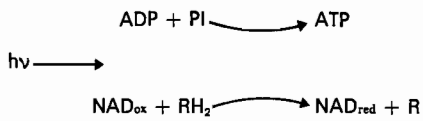


Fig. 7-1. Mecanismo de acción de la energía fotónica (plantas). hν, Energía fotónica. RH_2, Radical dador de electrones (agua). R, Radical aceptor de electrones (oxígeno). Pi, Fósforo inorgánico. NAD, Nicotinamida-adenín-dinucleótido. ADP, Adenosín-difosfato. ATP, Adenosín-trifosfato.

quimioorganotrofas. Prácticamente, casi todas las bacterias del hombre se pueden incluir en el grupo de quimioorganotrofas.

Fuente de carbono

Desde el punto de vista del poder de síntesis, se pueden dividir las bacterias en:

Autotrofas. Están dotadas de un gran poder de síntesis, ya que son capaces de formar prótidos, glúcidos, lípidos, etc., a partir de compuestos muy simples, como H_2O, sales minerales y, fundamentalmente, CO_2. Pueden ser estrictas si no utilizan la materia orgánica y facultativas si, además, son capaces de utilizarla.

Heterotrofas. Son incapaces de sintetizar sus propios constituyentes a partir de compuestos inorgánicos y necesitan compuestos orgánicos de carbono para obtener energía suficiente.

Aceptor final de electrones

También pueden dividirse las bacterias, según el último aceptor de electrones, en dos clases principales: *aerobias*, que emplean el oxígeno molecular como último aceptor de electrones, y *anaerobias*, que, en lugar de oxígeno, utilizan alguna otra molécula. Las que pueden utilizar ambas formas se denominan *facultativas* (v. más adelante).

Elementos específicos

Hay bacterias que son incapaces de sintetizar algunos de los metabolitos esenciales, por lo que hay que añadirlos al medio. Un metabolito esencial sería, pues, un factor de crecimiento necesario en determinadas bacterias. Dentro de estos factores estarían las vitaminas, que actúan como coenzimas o precursores de coenzimas (vitamina B_1, B_2, B_6 y B_{12}, ácido nicotínico, etc.); los aminoácidos, precursores de las proteínas; las bases púricas y pirimidínicas, precursoras de los ácidos nucleicos, y algunos otros, tales como los factores X y V, presentes en la sangre.

Las bacterias heterotrofas pueden ser, a su vez, prototrofas, capaces de sintetizar metabolitos esenciales, y auxotrofas, cuando necesitan factores de crecimiento. Prácticamente, casi todas las bacterias patógenas para el hombre son heterotrofas y auxotrofas.

La necesidad de factores de crecimiento en las bacterias auxotrofas puede limitarse a un solo factor o, por el contrario, a varios de ellos. Por otro lado, pueden surgir fenómenos de simbiosis cuando dos bacterias aprovechan factores de crecimiento, que por separado no serían capaces de sintetizar ninguna de las dos, o de satelitismo cuando sólo una se aprovecha de los metabolitos esenciales producidos por otra de ellas.

Condiciones físico-químicas

Incluso cuando se hallan presentes todas las sustancias nutritivas requeridas, el crecimiento y desarrollo de los microorganismos dependen de determinadas condiciones: concentración de iones hidrógeno, temperatura, presión osmótica, presencia de oxígeno, presencia de CO_2, influencia de humedad o desecación, influencia de la luz y otras radiaciones, etc.

Concentración de iones hidrógeno. Un pH adecuado es un factor esencial en el metabolismo y crecimiento de las bacterias. La mayoría de las comensales y patógenas crecen mejor en un medio neutro o ligeramente alcalino (7,2-7,6). Algunas bacterias, sin embargo, se desarrollan en presencia de un elevado grado de acidez y se denominan acidófilas (p. ej., *Lactobacillus*). Otras, por el contrario, son muy sensibles a los ácidos, pero tolerantes a los álcalis (p. ej., *Vibrio cholerae*). Concentraciones fuertes de carácter ácido o alcalino, por ejemplo, 5 % de ácido clorhídrico o hidróxido sódico, respectivamente, son letales para la mayoría de los microorganismos. Por ello es necesaria la adición de determinados compuestos a los medios de cultivo, con cierto efecto tampón: así, los fosfatos inorgánicos se emplean en dicha acción para pH superiores a 7,2 y el carbonato cálcico o bicarbonato sódico, en los casos de mayor producción de ácidos.

Temperatura. Interviene en dos aspectos, en el crecimiento de los microorganismos y en su viabilidad.

Para cada especie hay una temperatura definida, que puede variar entre los límites «máximos» y «mínimos», y existen diversos puntos intermedios, entre los cuales se encuentra la temperatura óptima. En la mayoría de las bacterias parásitas del hombre, la temperatura óptima corresponde a la de su hábitat natural, es decir, 37 °C.

En general, las bacterias del suelo y del agua tienen una temperatura óptima, que oscila entre 20 y 45 °C; se denominan *mesófilas*. Algunas de ellas tienen un amplio grado de desviación (p. ej., *Pseudomonas aeruginosa* puede crecer entre 5 y 43 °C), mientras que otras presentan un rango más corto (*Neisseria gonorrhoeae*, entre 30 y 39 °C).

Bacterias *psicrófilas* son aquellos organismos preponderantes marinos cuya temperatura óptima está por debajo de los 20 °C y *termófilas*, aquellos cuyo crecimiento puede variar de 55 a 80 °C y tienen un mínimo entre 20 y 40 °C (termófilas facultativas) o por encima de los 40 °C (termófilas estrictas).

La viabilidad será estudiada en el capítulo 11.

Presión osmótica. Como resultado de la presencia de la membrana citoplásmica, las bacterias, igual que otras células, están sujetas a los fenómenos osmóticos. En general suelen ser bastante tolerantes. Muchas crecen en soluciones con un contenido en sales del 0,1 al 1 %, pero otras, denomi-

nadas halófilas (u osmófilas), pueden crecer a más altas concentraciones, incluso cerca de la saturación.

La rápida exposición de bacterias a altas concentraciones salinas (2 a 25 % de cloruro sódico) puede causar plasmólisis, y únicamente algunas bacterias marinas dependen para su existencia de determinadas concentraciones salinas y se lisan cuando se las traslada del agua de mar a agua destilada.

Las bacterias halófilas, en su mayoría, no son patógenas. Pero existen bacterias defectivas en cuanto a su pared celular (formas L), que requieren concentraciones hipertónicas de sales para sobrevivir. En estos casos, para poder aislarlas en los productos patológicos (sangre), es necesario cultivarlas en medios hipertónicos (*Bacteroides*).

Presencia de oxígeno. Todas las bacterias aerobias obligadas necesitan oxígeno como aceptor de electrones. En los medios de cultivo líquidos de grosor considerable, las bacterias aerobias sólo crecen en la superficie y cada vez las condiciones se hacen más anaerobias, a medida que se desciende de dicha superficie. Para que los microorganismos aerobios también puedan crecer en las capas profundas de un cultivo líquido, éste tiene que airearse, lo cual puede hacerse con una mezcla de oxígeno, nitrógeno y anhídrido carbónico. Se puede obtener una gran superficie de contacto entre las fases líquida y gaseosa, para aumentar la aireación, por varios métodos: cultivo en superficies planas, moviendo el líquido por medio de agitadores; por rotación de los frascos según su eje longitudinal; pasando aire a presión por la columna líquida, y por percolación o agitación mecánica.

La exclusión de oxígeno atmosférico, por el contrario, es una condición necesaria para las bacterias anaerobias estrictas. Para ello, se puede recurrir a soluciones en las que se ha hecho el vacío, frascos cerrados sin burbujas de aire, bombas de vacío, medios que absorban el oxígeno (pirogalol) o medios reductores (tioglicolato, cisteína). En cualquiera de los casos, para el desarrollo de las bacterias, debe siempre tenerse en cuenta la necesidad o no de la existencia del oxígeno.

Presencia de CO_2. Todas las bacterias requieren la presencia de pequeñas cantidades de dióxido de carbono para su crecimiento, que normalmente proviene de la atmósfera o de reacciones de oxidación y fermentación de la propia célula. Otras bacterias (p. ej., *Brucella abortus*), por el contrario, requieren mayores concentraciones de este compuesto (5 a 10 %), que deben ser suministradas creando un ambiente definido en el medio de cultivo (microaerofilia).

Influencia de la humedad y desecación. Las bacterias están constituidas por una elevada proporción (80 %) de agua y precisan, además, un ambiente húmedo para su desarrollo. El aire excesivamente seco es lesivo para muchos microorganismos, y así *Neisseria*, *Treponema* y algunos tipos de virus mueren rápidamente, mientras que otros, como *Staphylococcus aureus* o algunos poxvirus, pueden sobrevivir durante semanas o meses. Los esporos de determinadas bacterias, como, por ejemplo, *Bacillus anthracis*, pueden sobrevivir, de 5 a 6 años en el suelo.

Además, ciertas bacterias no esporuladas pueden sobrevivir en ambientes secos, si dicha desecación se lleva a cabo de una forma rápida y completa, y preferentemente si se hace el vacío y se almacenan en ampollas de vidrio cerradas. Esta es la base de la liofilización, método capaz de conservar los cultivos bacterianos en el laboratorio.

Influencia de la luz y otras radiaciones. La oscuridad proporciona condiciones favorables de crecimiento. Por el contrario, los rayos ultravioleta suministrados directamente por la luz del sol o por una lámpara de mercurio destruyen los microorganismos; lo mismo ocurre con las radiaciones ionizantes.

METABOLISMO

Es el conjunto de reacciones químicas que se producen en las células vivas. El metabolismo de las bacterias no difiere en sus mecanismos básicos del de los demás seres vivos; las bacterias necesitan obtener del medio la energía y sustancias nutritivas necesarias para la síntesis de sus materiales plásticos y de reserva, así como para el crecimiento, movimiento, etc. Las reacciones metabólicas se pueden dividir en dos grandes grupos: reacciones catabólicas o energéticas, que tienen por objeto la descomposición de los sustratos en sustancias más sencillas con liberación de energía, y reacciones anabólicas o biosintéticas, en las que dichas sustancias y energía se utilizan para la síntesis de los materiales propios de la bacteria. Todas estas reacciones están reguladas por la presencia de enzimas o fermentos, que aceleran la reacción y actúan como catalizadores orgánicos.

En realidad, la clasificación en reacciones catabólicas y anabólicas es meramente didáctica, ya que ambos procesos no existen por separado, sino que se imbrican. Así, el crecimiento a partir de una fuente de carbono, como la glucosa, puede dar lugar (fig. 7-2) a energía (en forma de ATP, metabolismo energético) y a la síntesis de proteínas (metabolismo biosintético).

Catabolismo o reacciones energéticas

Son aquellas reacciones que tienen por objeto la descomposición de las sustancias nutritivas en compuestos más sencillos con liberación de energía, que la bacteria utiliza para su biosíntesis.

La mayoría de bacterias son, como hemos visto, heterotrofas, es decir, obtienen la energía por la descomposición de sustancias orgánicas que se encuentran en el medio, mediante una serie compleja de reacciones enzimáticas, que se pueden dividir en cuatro fases: digestión, absorción, preparación y oxidación. Aunque en todas las fases se producen reacciones exergónicas, sólo en la última o fase de oxidación se libera la energía en forma biológicamente utilizable por la bacteria.

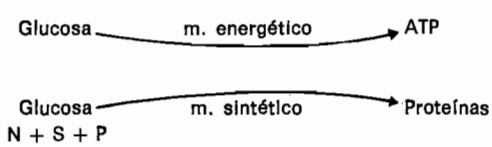


Fig. 7-2. Tipos de metabolismo.

Digestión

Las sustancias orgánicas que la bacteria utiliza pueden ser de origen vegetal o animal, en especial proteínas, hidratos de carbono, grasas y ácidos nucleicos, además de otros compuestos orgánicos menos importantes.

La mayoría de estas sustancias son de molécula demasiado voluminosa para poder penetrar a través de la membrana citoplásmica y han de ser previamente descompuestas en fragmentos más pequeños mediante procesos hidrolíticos, catalizados por enzimas que la célula sintetiza y secreta al medio externo (exoenzimas). Por este mecanismo se actúa sobre las proteínas, lípidos y glúcidos:

Acción sobre las proteínas. Las proteínas, al igual que otros compuestos de alto peso molecular, son convertidas, en primer lugar y en el exterior de la célula, en fragmentos permeables, reacción catalizada por exoenzimas. Las enzimas proteolíticas hidrolizan algunos enlaces peptídicos de la molécula proteica. Los fragmentos consistentes en polipéptidos y en oligopéptidos pasan al interior de la célula y, por la acción de las peptidasas intracelulares, son degradados hasta aminoácidos (fig. 7-8).

Acción sobre los lípidos. Las bacterias descomponen los lípidos en ácidos grasos y glicerina, y, como tales, son absorbidos y metabolizados.

Acción sobre los glúcidos. Sobre los hidratos de carbono, los microorganismos actúan por hidrólisis, transformándolos en sacáridos, que son absorbidos y luego fosforilados.

Absorción

Las moléculas pueden penetrar en la bacteria por dos mecanismos fundamentales, pasivamente, ya a través de los poros submicroscópicos de la membrana citoplásmica que permiten el paso de iones disueltos y pequeñas moléculas (sustancias hidrosolubles) o por su solubilidad en los lípidos de la membrana según los coeficientes de reparto (sustancias liposolubles), o activamente, por un mecanismo de transporte específico de dichas moléculas, facilitado por la acción de portadores y fermentos (permeasas).

El mecanismo pasivo de penetración depende de las concentraciones relativas que existen en el interior y exterior de la bacteria; el mecanismo activo es independiente del gradiente de concentraciones, pues mediante éste la concentración de los sustratos en el interior de la bacteria puede ser muy superior al del medio externo, permitiendo a la bacteria un metabolismo y crecimiento adecuados.

Preparación

En el interior de la bacteria, muchas veces continúan los procesos hidrolíticos por endoenzimas, hasta obtener un producto final (nutriente), que puede ser oxidado directamente o después de sufrir una serie de transformaciones preparatorias para llegar a la sustancia susceptible de oxidación, por las oxidorreductasas de la bacteria. Estas reacciones de preparación pueden ser muy diversas, y quizá la más importante es la fosforilación, es decir, la unión con un grupo fosfórico activado que lleva en su enlace la energía indispensable para que se inicien las reacciones de oxidación, las cuales liberarán cantidades mucho mayores de energía, precisamente en forma de compuestos, con enlaces fosfóricos de elevado contenido energético (ATP).

Oxidación biológica

Se denominan reacciones de oxidación biológica, o procesos respiratorios, las que tienen por resultado la oxidación de sustancias orgánicas con liberación de energía. Su finalidad es la obtención de la energía necesaria (ATP) para el crecimiento; asimismo, en el curso de dichas reacciones se obtienen productos intermedios que se pueden utilizar como punto de partida para la biosíntesis. En general, podemos afirmar que la glucosa se oxida, se producen deshidrogenaciones repetidas con liberación de electrones, que son transportados por unas moléculas especiales (cadenas transportadoras) hasta un aceptor final, y la energía liberada se almacena en forma de ATP (fig. 7-3).

Este mecanismo se puede producir mediante dos procesos diferentes: uno de ellos se denomina fosforilación a nivel de sustrato y otro fosforilación oxidativa. Ambos llevan consigo oxidaciones, con liberación de electrones e hidrógeno. La fosforilación a nivel de sustrato aparece en las células, en el proceso denominado fermentación, y la fosforilación oxidativa, en el proceso denominado respiración.

Respiración. Puede ser definida como un proceso que comporta la combustión de un sustrato con la liberación de electrones e hidrógeno, capaces de reducir un aceptor final. Cuando el aceptor final es el oxígeno, el proceso es denominado respiración aerobia, y cuando es otro compuesto distinto al oxígeno, el proceso se denomina respiración anaerobia.

Respiración aerobia. La glucosa se degrada a ácido pirúvico que, por el ciclo de Krebs, es oxidado a CO_2 y H_2O:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 38ADP + 38Pi \rightarrow$$
$$\rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 38ATP$$

La glucosa es catabolizada a ácido láctico en la mayoría de los microorganismos a través de la glucólisis (Embden-Meyerhof). Pero en muchas bacterias no es ésta la única vía metabólica, ya que se han demostrado otras dos: la vía pentosafosfato o fosfogluconato, que lleva la glucosa a ribosafosfato y seis moléculas de CO_2, y la vía de Entner-Doudoroff, exclusiva de aerobios obligados y que origina etanol y CO_2.

Los electrones son transportados por una cadena, que en las células superiores está formada por nicotinamida, flavi-

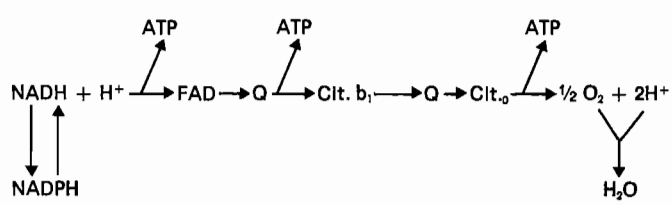


Fig. 7-3. Sistema de transporte de electrones en *E. coli*. NAD, Nicotinamida-adenín-dinucleótido. FAD, Flavín-adenín-nucleótido. Q, Quinona. Cit., Citocromos. ATP, Adenosín-trifosfato.

na, porfirina y citocromos, pero en las bacterias es más sencilla (FAD o flavín-adenín-nucleótico, NAD, etc.) (fig. 7-3) y se encuentra en la membrana citoplásmica de la célula.

A menudo se produce una oxidación directa del sustrato debido a la sencillez del sistema, con intervención a veces de un solo NAD como transportador, y se forma agua oxigenada nociva para la bacteria. Por ello, ha de ser desdoblada por una enzima, denominada catalasa, y se forma agua y oxígeno. El esquema de la respiración aerobia aparece en la figura 7-4.

La reducción del oxígeno en el proceso respiratorio produce la liberación de radicales libres intermedios muy tóxicos para la bacteria, como el anión superóxido O_2^-. Todas las bacterias aerobias y aerotolerantes poseen una superóxido-dismutasa (metaloenzima con Mn), que secuestra el radical O_2^-, en la siguiente reacción:

$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Inmediatamente, una catalasa impide la acumulación de H_2O_2. La ausencia de superóxido-dismutasa, catalasa y peroxidasa en bacterias anaerobias explica en parte la toxicidad del oxígeno en estos microbios. Sin embargo, *B. fragilis* y otros anaerobios producen estas enzimas, lo que explica que estas bacterias patógenas puedan vivir horas en los tejidos oxigenados, hasta que se produzcan condiciones más propicias para el crecimiento.

Respiración anaerobia. En este proceso, los aceptores terminales de electrones pueden ser los nitratos, fumaratos, sulfatos o carbonatos. En las especies patógenas para el hombre, especialmente en los bacilos gramnegativos de localización intestinal, los nitratos y fumaratos son los principales aceptores, con la producción de nitritos y succinatos como elementos finales de reducción.

La cadena transportadora en la respiración anaerobia es similar a la aerobia, excepto que la citocromo-oxidasa es sustituida por otras enzimas, por ejemplo, nitrato-reductasa, cuando son los nitratos los aceptores finales de electrones. Dicha nitrato-reductasa se induce en ausencia de oxígeno o en presencia de nitratos (o ambas a la vez) y se reprime en presencia de oxígeno. Las dos variedades de respiración aerobia y anaerobia se muestran en la figura 7-5.

Fermentación. La fermentación puede ser definida como un proceso de oxidación que comporta la combustión de un sustrato orgánico, en ausencia de oxígeno, con la liberación de electrones e hidrógeno, capaces de reducir una molécula orgánica. Por ello, en este proceso de óxido-reducción, tanto el dador como el aceptor de electrones son un compuesto orgánico.

En un sentido estricto, podemos afirmar que una fermentación es un proceso de obtención de energía, en el que el hidrógeno pasa a un aceptor orgánico y el oxígeno no interviene. Por ello habría que diferenciarlo del proceso citado anteriormente de «respiración anaerobia», que se efectúa en ausencia de oxígeno, pero en el que el hidrógeno es transferido a nitratos o sulfatos (inorgánicos). Muchos de los microorganismos que realizan procesos fermentativos son anaerobios obligados y otros son anaerobios facultativos.

La vía de producción sería, en esquema, la siguiente: la glucosa pasaría a pirúvico, pero el H_2 transportado por el NAD sería de nuevo reoxidado y se obtendrían diferentes

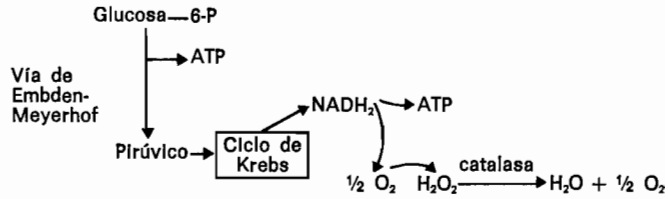


Fig. 7-4. Esquema de la respiración aerobia.

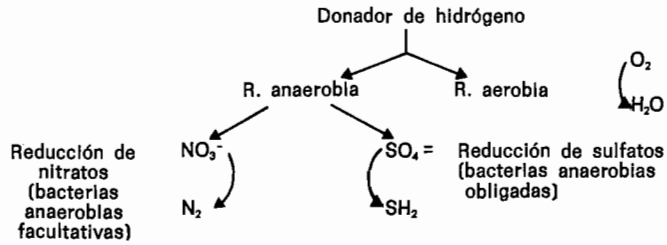


Fig. 7-5. Esquema general de la respiración (aerobia y anaerobia).

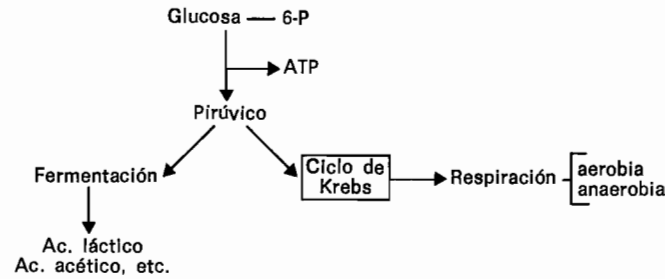


Fig. 7-6. Vías del metabolismo energético.

productos ácidos. Las dos posibles vías del metabolismo energético, la respiración y la fermentación, aparecen esquematizadas en la figura 7-6.

Atendiendo a los productos ácidos liberados, su predominio cuantitativo o sus especiales características, podemos distinguir diversos tipos de fermentaciones: alcohólica, láctica, propiónica, fórmica, butírica, etc.

Fermentación alcohólica. El etanol es uno de los productos que puede resultar de la fermentación de los azúcares en determinados microorganismos, tales como levaduras, por ejemplo, *Sacharomyces cerevisiae.*

Fermentación láctica. En ella se produce, a partir de los hidratos de carbono, ácido láctico. Se puede dividir en dos tipos: homofermentativa, en la que sólo se produce o casi exclusivamente (90 %) ácido láctico, y que sería el caso de *Streptococcus* o determinados *Lactobacillus*, y heterofermentativa, en la que, además, se pueden obtener otros productos de la fermentación y anhídrido carbónico (otros *Lactobacillus*).

Fermentación propiónica. Se produce a partir de un sustrato, como la glucosa, sacarosa, lactosa e incluso ácido láctico o málico, dando lugar a la aparición de ácido propiónico. Como ejemplo, se encuentra *Clostridium propionicum* o *Bacteroides ruminicola.*

Fermentación fórmica y ácido-mixta. Existe un grupo de microorganismos que, además de producir ácido fórmico, elaboran otra serie de ácidos, entre los productos de fermentación, gases y productos intermedios. De ahí que reci-

ba el nombre de ácido-mixta. Dentro de este grupo se encuentran géneros de la familia *Enterobacteriaceae*.

Fermentación butilenglicólica. A partir de la vía glucosa-pirúvico se forma acetoína (acetil-metil-carbinol), que es la base de la reacción denominada de Voges-Proskauer. Este proceso es típico de ciertas enterobacterias, como *Enterobacter, Serratia* y *Klebsiella* y también especies de los géneros *Bacillus, Listeria, Rothia, Staphylococcus, Vibrio* y *Aeromonas*.

Conservación de la energía

A nivel celular se producen una serie de oxidaciones biológicas, que son combustiones a baja temperatura. En ellas, la finalidad es no sólo producir energía, sino conservarla mediante reacciones acopladas en forma de ATP o NADP reducido. En la figura 7-7 aparece reflejado el proceso de conservación obtenido de diferentes combustiones en el que se forman H_2O, CO_2 y ATP; dicho ATP actuará a nivel del trabajo mecánico, transporte y biosíntesis, que, a su vez, mediante el ADP, cerrarán el círculo.

Aplicación práctica del estudio de las vías del metabolismo energético

Para conocer en la práctica las distintas vías energéticas seguidas por los microorganismos, se utilizan diversos tipos de pruebas:

Relación de las bacterias con el oxígeno. Consiste en sembrar el microorganismo en un medio sólido (que no contenga oxígeno u otro aceptor inorgánico de electrones, como nitratos), en un tubo largo y estrecho, a fin de que el contacto con el aire sea mínimo. Tras una incubación adecuada se pueden observar varios tipos de crecimiento (fig. 7-9).

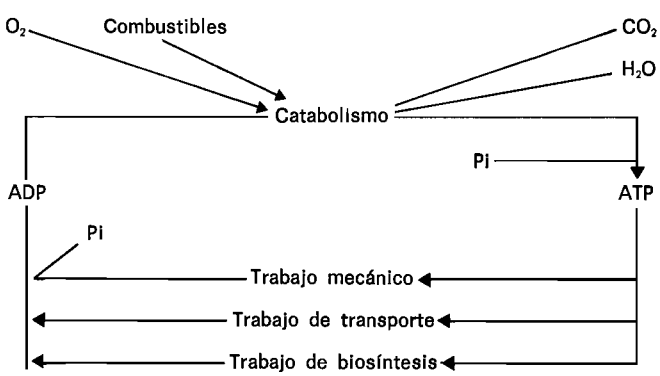


Fig. 7-7. Conservación de la energía.

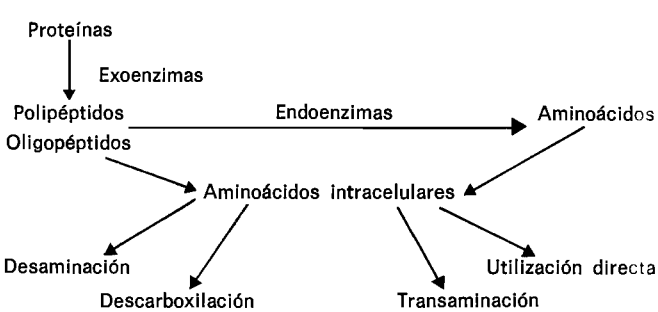


Fig. 7-8. Catabolismo proteico.

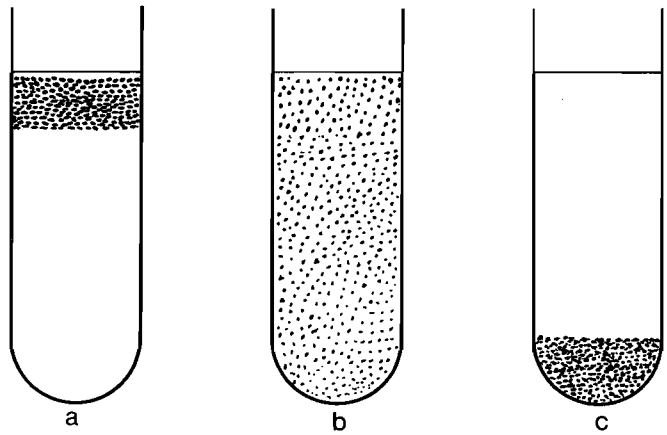


Fig. 7-9. Relación de las bacterias con el oxígeno: *a)* Aerobias estrictas. *b)* Aerobias-anaerobias facultativas. *c)* Anaerobias estrictas.

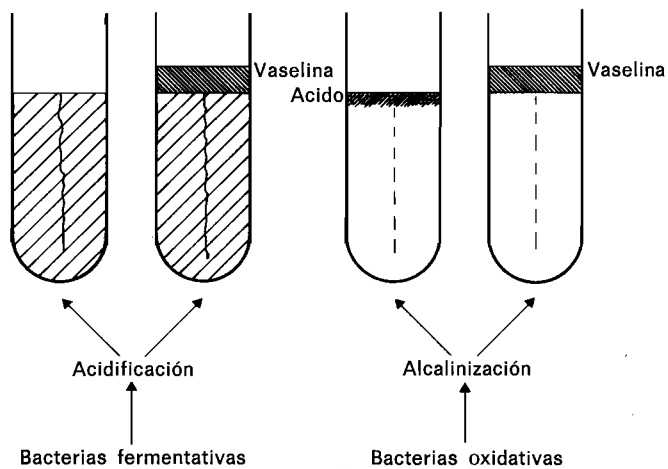


Fig. 7-10. Prueba de la oxidación-fermentación de Hugh-Leifson.

Bacterias aerobias estrictas (a). Sólo hay crecimiento en la parte superior del tubo, cerca del oxígeno atmosférico, y, por el contrario no aparece en el fondo.

Bacterias aerobias-anaerobias facultativas y bacterias anaerobias-aerobias tolerantes (b). Crecen a lo largo de todo el tubo, tanto en presencia como en ausencia de oxígeno.

Bacterias anaerobias estrictas (c). El crecimiento se observa sólo en la parte inferior, ya que el oxígeno de la superficie es tóxico.

Prueba de oxidación-fermentación de Hugh-Leifson. Se utilizan dos tubos, que contienen un medio semisólido con glucosa y rojo fenol como indicador de las modificaciones del pH. Tras sembrar por picadura central y profunda, se cubre uno de los tubos con aceite de parafina (a fin de impedir el contacto con el oxígeno), mientras que el otro se deja libre. Después de la incubación, se puede observar la existencia de dos posibles vías metabólicas: fermentativa y oxidativa (fig. 7-10).

Bacterias fermentativas. Se produce un crecimiento abundante en ambos tubos, con formación de gran cantidad de ácidos como productos terminales, y el consiguiente cambio de color debido al viraje del indicador como consecuencia del cambio del pH.

Bacterias oxidativas. Se produce sólo crecimiento en la parte superior del tubo abierto, con poca cantidad de ácido (sobre todo ácido carbónico) y poco gas. En el medio cerrado no hay crecimiento.

Las bacterias aerobias estrictas son oxidativas. Las bacterias anaerobias-aerobias tolerantes y anaerobias estrictas son siempre fermentativas.

Reacción de las oxidasas. La citocromo-oxidasa es capaz de actuar sobre un compuesto, el dimetil-parafenilendiamina, con producción de color rojo oscuro. Aquellas bacterias que tienen una cadena de citocromos completa en contacto con dicho compuesto serán capaces de provocar dicho cambio de color. Serán, pues, oxidasa-positivas. Por el contrario, aquellas cuya cadena de citocromos sea incompleta no cambiarán el color y serán oxidasa-negativas.

Todas las bacterias anaerobias patógenas para el hombre son oxidasa-negativas y algunas aerobias, sobre todo las estrictas, son oxidasa-positivas.

Reacción de la catalasa. La catalasa es una enzima típica de las bacterias aerobias que tienen un metabolismo oxidativo, capaz de descomponer el agua oxigenada, que es un producto tóxico, en agua y oxígeno. Desde el punto de vista práctico, se toma la colonia de los microorganismos que hay que investigar y se mezcla con una gota de agua oxigenada. Si la bacteria posee catalasa, ésta escindirá dicho compuesto, formando una serie de burbujas visibles, debidas al oxígeno liberado.

Reducción de los nitratos. Las bacterias pueden reducir los nitratos a nitritos, amonio, nitrógeno molecular e incluso óxidos de nitrógeno. Se utiliza un medio elemental con nitrato potásico y se detecta la presencia de nitritos, mediante un reactivo específico. Si también los nitritos han sido reducidos, la reacción es negativa, y entonces se investiga la presencia de nitratos no reducidos, añadiendo polvo de cinc. Este actúa como reductor, por lo que, si ahora aparece la reacción como positiva, es señal de que el microorganismo había reducido los nitratos del medio.

Reacciones del rojo metilo y de Voges-Proskauer. Los tipos de fermentación frente a la glucosa tienen su aplicación en estas dos reacciones; las de mayor interés son la ácido-mixta y la butilenglicólica. La primera se caracteriza en que los ácidos formados comunican al medio una acidez elevada (pH inferior a 4,5, donde el rojo metilo vira de color) (tabla 7-2). En la segunda se produce una acidez menor (reacción de rojo de metilo negativo), pero, además, se forma el butilenglicol, que pasa a acetoína (en presencia de α-naftol y potasa) fácilmente identificable: es la reacción de Voges-Proskauer. Mediante estas reacciones se puede diferenciar el genero *Escherichia* (rojo de metilo positivo y reacción de Voges-Proskauer negativa) de los géneros *Enterobacter, Klebsiella* y *Serratia* (rojo de metilo negativo, reacción de Voges-Proskauer positiva).

Reacciones basadas en el catabolismo. Existe una gran variedad de pruebas bioquímicas, que, basadas en la actuación sobre diferentes sustratos, se utilizan para la identificación de géneros, especies y cepas bacterianas. Unas estudian el catabolismo proteico (proteasas, gelatinasa, ADNasa, descarboxilasas, deshidrolasas y desaminasas de diferentes aminoácidos, ureasa, etc.); otras estudian el metabolismo glucídico (actuación sobre el glucógeno, almidón, disacáridos o monosacáridos) y el lipídico (determinación de lipasas, lecitinasa, etc.) (fig. 7-8).

Tabla 7-2. Características de los principales indicadores

Indicador	Sensibilidad: variación [pH]	Cambio de color Alcalino → Acido
Rojo de metilo	6,4-4,4	Amarillo a rojo
Púrpura de bromocresol	6,8-5,2	Púrpura a amarillo
Azul de bromotimol	7,6-6,0	Azul a amarillo
Rojo fenol	8,4-6,8	Rojo a amarillo
Fenolftaleína	10-8,3	Rojo a incoloro

Anabolismo o reacciones biosintéticas

Son aquellas reacciones químicas que tienen por objeto la síntesis de materiales constitutivos de la célula bacteriana, así como otros que pueden eliminarse al exterior. Gracias a la energía almacenada de los procesos de oxidación, se van a sintetizar pequeñas o grandes moléculas.

Los mecanismos de biosíntesis de las pequeñas moléculas son múltiples y distintos para cada una de ellas. Están estrechamente vinculados a los procesos de catabolismo, ya que éstos no sólo proporcionan la energía necesaria, sino, además, los materiales básicos. Estas actividades de síntesis consisten en reacciones particulares, que dentro de la marcha general del catabolismo representan desviaciones colaterales o especiales reversibles, que se facilitan por la presencia de determinadas enzimas o sustancias que condicionan su actividad.

Pero la síntesis de las grandes moléculas se realiza por mecanismos diferentes. Dejando aparte las constituidas por la polimerización de pequeñas moléculas de la misma clase (p. ej., peptidoglicano), o de pocas clases distintas, como ocurre con algunos polisacáridos, y cuya síntesis se realiza por los mecanismos anteriores, la mayoría de moléculas de gran tamaño están constituidas por una gran variedad de compuestos, que se diferencian por su número y ordenación, y son los determinantes de la especificidad bacteriana. Es evidente que la síntesis de estos compuestos específicos no puede realizarse por mecanismos enzimáticos simples, como en el caso anterior, sino que probablemente dependen de la actuación de catalizadores multifuncionales en presencia de estructuras, que sirven de modelo o patrón dependientes del genoma de la bacteria. Es lo que ocurre con algunos polisacáridos y en especial con las proteínas y ácidos nucleicos, cuya síntesis y mecanismos de regulación han sido expuestos en el capítulo 4.

Productos resultantes de los procesos anabólicos

En los procesos de síntesis, las bacterias no sólo forman sus propios materiales y sustancias de reserva, que acumulan en el citoplasma en forma de granulaciones, sino que,

además, pueden sintetizar sustancias específicas que pasan al medio externo y muchas veces tienen una gran importancia en la identificación de las especies bacterianas o para explicar su acción patógena. Entre los productos de síntesis se encuentran:

1. Sustancias solubles específicas, como los polisacáridos capsulares.
2. Toxinas, en especial exotoxinas o toxinas solubles, elaboradas por las bacterias toxigénicas (*C. diphteriae, C. tetani, C. botulinum*, etc.), que explican su acción patógena.
3. Exoenzimas o exofermentos, algunos de los cuales, además de su función digestiva coadyuvan a la acción patógena, como las coagulasas, estreptoquinasas, hialuronidasas, β-lactamasas, etc.
4. Antibióticos en algunas especies de bacterias, hongos y actinomicetos.
5. Vitaminas. Algunas bacterias de la flora intestinal sintetizan vitaminas esenciales para el hombre, en especial las del complejo B y K, que representan la producción endógena, lo cual junto con el aporte exógeno mediante la alimentación permite cubrir las necesidades del organismo en estas vitaminas. Este conocimiento es de gran interés, pues explica que, cuando se anula la flora intestinal por cualquier causa (trastornos digestivos, tratamiento por antibióticos de amplio espectro, etc.), pueden aparecer signos de hipovitaminosis B y K, a pesar del aporte normal por la alimentación.
6. Pigmentos. Existe un reducido grupo de bacterias que, en el curso de su metabolismo, sintetizan sustancias coloreadas. Algunas incorporan el pigmento a su citoplasma y son las bacterias cromóforas, como *Staphylococcus, Sarcina, B. melaninogenicus*, mientras que otras lo difunden en el medio, bacterias pancromóforas, como *Pseudomonas aeruginosa*. El color es diverso: *Sarcina*, de color amarillo o rojo; *Serratia marcescens*, de color rojo intenso; *Staphylococcus*, de color blanco o amarillo; *B. melaninogenicus*, de color marrón oscuro, y *Pseudomonas aeruginosa* forma varios pigmentos, la fluoresceína de color amarillo verdoso, la piocianina de color verde azulado, el pigmento marrón, etc.

Los pigmentos pueden pertenecer a grupos químicos diversos (anthocianinas, quinonas, carotenoides, fenazinas o pirroles), y su función es poco conocida, pero en general de tipo respiratorio.

7. Bacteriocinas. Son sustancias antibacterianas de naturaleza química compleja y peso molecular elevado (50.000 a 90.000 daltons). Elaboradas por cultivos bacterianos de especies muy diversas, su síntesis es letal para la célula productora y requieren para ejercer su acción la previa adsorción sobre receptores específicos de la célula sensible. Su peso molecular elevado y el mecanismo de acción las separan de las microcinas y de los antibióticos; las diferencias con los bacteriófagos se estudian en el capítulo 8.

Químicamente, las bacteriocinas son estructuras proteicas o glúcido-lípido-proteicas, dotadas de poder inmunógeno. Su denominación proviene de la bacteria productora, y así tenemos las colicinas, vibriocinas, marcescinas, klebocinas, piocinas, fragilicinas, etc., entre las provenientes de bacilos gramnegativos, y enterococinas, estreptococinas, estafilococinas, tuberculocinas, etc., entre las procedentes de los grampositivos.

Con respecto al espectro de acción se consideró, en principio, que estaba limitado a los microorganismos de su especie, pero en el momento actual sabemos que abarca especies afines e incluso muy distantes; así, por ejemplo, hay colicinas que son capaces de actuar sobre todas las enterobacterias, y bacteriocinas de algunos grampositivos pueden inhibir incluso bacilos gramnegativos. En realidad, el espectro de acción depende de los receptores de fijación en las bacterias sensibles, por una parte, y del control genético de la producción, por otra. Efectivamente, la producción está ligada a factores plasmídicos, llamados factor *col* (aunque la denominación más exacta debería ser *bac*), de los que los denominados F e I son capaces de transmitirse, gracias a *pili* que igualmente codifican.

El mecanismo de acción de las bacteriocinas se desarrolla en dos fases. En la primera se produce una adsorción sobre los receptores de la superficie bacteriana, seguida por una actuación específica sobre el componente lipoproteico de la membrana citoplasmática. En una segunda fase se produce la lesión irreversible de la célula por actuación sobre procesos energéticos, metabolismo del ADN o síntesis de las proteínas y ARN.

Existen diversos métodos de laboratorio para la detección de las bacteriocinas, tanto en medio líquido como en sólido.

El papel de las bacteriocinas en el mantenimiento y preponderancia de las diversas cepas en los nichos ecológicos es muy discutido. Se ha comprobado que existen diferencias significativas en la producción de bacteriocinas por *K. pneumoniae*, según que las cepas procedan del intestino, procesos infecciosos o aguas residuales. Por ello, el papel que desempeñen las bacteriocinas en el mantenimiento de la flora intestinal normal y el que puedan tener, cuando aparece un proceso infeccioso específico con desaparición casi total de la flora normal e instauración del agente patógeno, son detalles muy significativos que hay que estudiar.

La aplicación más importante de las bacteriocinas es como marcadores epidemiológicos. Aquellas cepas aisladas de procesos infecciosos adquiridos en el hospital pueden y deben ser tipadas por diversos métodos (serotipia, biotipia, lisotipia), y uno de los más utilizados es la *bacteriocinotipia*, con la que pueden demostrarse qué bacteriocinas produce la cepa en cuestión (tipado por producción), su sensibilidad a las que producen unas cepas patrón de referencia (tipado por sensibilidad) o ambas técnicas conjuntamente. Este «tipado» tiene actualmente gran interés para la investigación epidemiológica de cepas aisladas en un área del hospital o para conocer, en algunos casos, si la infección ha sido endógena o exógena. Se han estudiado principalmente en *E. coli, Shigella, Serratia, Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas*, etc.

Las *microcinas* son también sustancias antibacterianas, que, a diferencia de las bacteriocinas, son de bajo peso molecular y susceptibles de ser sintetizadas en medios mínimos.

MEDIOS DE CULTIVO

Las bacterias contenidas en un producto patológico necesitan una serie de compuestos para su desarrollo (una fuente de carbono, nitrógeno, elementos minerales y factores de crecimiento). Un medio de cultivo es un sustrato o solución de nutrientes, en los que crecen y se multiplican los microorganismos en el laboratorio, con objeto de aislar las di-

ferentes especies bacterianas, proceder a su identificación y llevar a cabo una serie de estudios complementarios.

Los sustratos energéticos y plásticos pueden ser suministrados por sustancias nutritivas contenidas en la maceración de la carne y vísceras. Los aminoácidos o péptidos son aportados por las peptonas, que contienen todos los productos de degradación de las proteínas, sin vitaminas, y su composición exacta es variable según el tipo de sustrato y la enzima utilizados (pepsina, tripsina o papaína). Los factores de crecimiento son suministrados por maceración y la adición de sangre, suero, extracto de levaduras, líquido ascítico, etc.

Los medios de cultivo pueden dividirse según diferentes criterios (tabla 7-3): consistencia, origen, composición, utilización, etc.

Tabla 7-3. Clasificación de los medios de cultivo

Por su consistencia
Líquidos
Sólidos
Por su origen
Sintéticos
Naturales
Por su composición
Comunes
Enriquecidos
Otros medios
Enriquecimiento
Selectivos
Especiales
Identificación o diferenciales
Transporte
Conservación

Por su consistencia

Medios líquidos

Contienen los nutrientes antes citados, con adición de algún tampón, capaz de mantener el pH adecuado. Entre los más empleados están el caldo común o caldo nutritivo, caldo-tioglicolato, el agua de peptona, etc.

Medios sólidos

Un medio sólido se prepara añadiendo agar-agar (sustancia inerte polisacárida obtenida de las algas) a un medio líquido determinado. Este conjunto, convenientemente esterilizado, se vierte en una placa de Petri o en tubos. Las exigencias nutritivas y las condiciones físico-químicas son similares a las de medios líquidos. Pero, a diferencia de ellos, presentan la posibilidad de obtener colonias aisladas, siempre que la cantidad de inóculo esté suficientemente diluida. En este caso se puede observar la existencia de colonias separadas unas de otras, y cada una constituye un *clon* (conjunto de bacterias que provienen de una célula madre, con el mismo patrimonio hereditario y las mismas características fisiológicas) (fig. 6-15).

Por su origen

Medios sintéticos

Son aquellos que poseen unos componentes químicos definidos disueltos en agua y se usan para los estudios metabólicos. Entre ellos se encuentran los medios mínimos, pues en ellos se intenta comprobar el crecimiento de una bacteria determinada, con muy pocos nutrientes (p. ej., bacterias auxotrofas). Los medios semisintéticos son sintéticos a los que se añaden factores de crecimiento bajo la forma de un extracto orgánico completo (p. ej., extracto de levaduras).

Medios naturales

Son los preparados a partir de sustancias naturales animales o vegetales, de composición no rigurosamente constante (p. ej., suero, leche, patata, etc.).

Por su composición

Medios comunes

Son aquellos cuya única fínalidad es el crecimiento de los microorganismos poco exigentes. Pueden ser líquidos, de enriquecimiento, para conseguir una gran cantidad de bacterias a partir del inóculo efectuado (caldo común, agua de peptona) o sólidos, de aislamiento (agar común).

Medios enriquecidos

Son medios comunes u ordinarios, a los que se añaden ciertos productos (sangre, suero, líquido ascítico, glucosa, etc.) que permiten el aporte de factores de crecimiento o sustancias que neutralizan agentes inhibidores del crecimiento, en bacterias exigentes. Son distintos para cada tipo de bacterias.

Otros medios

Medios de enriquecimiento

Son medios líquidos que favorecen o permiten la multiplicación de unas bacterias, inhibiendo parcialmente la de otras, por ejemplo, el de Muller-Kauffman, que permite el crecimiento de *Salmonella* e inhibe el de numerosos coliformes; el agua de peptona alcalina se utiliza para *V. cholerae*.

Medios selectivos

Son sólidos en los que la «selectividad» se consigue alterando las condiciones físicas del medio o añadiendo compuestos químicos, que sean nocivos para las bacterias cuyo crecimiento no interesa. Entre los primeros tenemos:

Cambios en el pH del medio. Así, ciertos medios para favorecer el crecimiento de *Lactobacillus* llevan ácido acético que condiciona un pH final de 5,4, hostil para muchas

especies. De la misma forma, *S. faecalis* puede crecer a pH de 9,6.

Temperaturas disgenésicas. Pueden ser altas, como cultivos a 60 °C típicos de *S. faecalis* o a 44 °C de *E. coli*, o bajas, de las que el ejemplo más demostrativo es el cultivo de *Listeria*, capaz de crecer y desarrollarse a 4 °C.

Altas concentraciones osmóticas. Son las de aquellos medios cuyo contenido en cloruro sódico es muy elevado y que son utilizados para el aislamiento e identificación de *Staphylococcus* (7,5 %) o *Vibrio parahaemolyticus* (7-10 %).

Entre los compuestos químicos inhibidores podemos mencionar los siguientes:

Antisépticos. Son sustancias antibacterianas, inespecíficas, que pueden actuar como inhibidores. Un ejemplo de medio de cultivo de este tipo es el medio S-S *(Salmonella-Shigella)*, que, al contener verde brillante (inhibe los grampositivos) y sales biliares (inhibe un alto número de gramnegativos, menos enterobacterias), permite un perfecto aislamiento de dichos patógenos. Otro ejemplo es el medio de MacConkey que, al contener cristal violeta, inhibe asimismo los grampositivos, pero no las enterobacterias.

Antibióticos. Son sustancias antibacterianas específicas, lo que permite utilizarlas para destruir el crecimiento de aquellos microorganismos que no nos interesa que crezcan en el medio de cultivo. Ejemplo de un medio con antibióticos es el de Thayer-Martin con VCN (vancomicina, colistina y nistatina), que se utiliza para el aislamiento de gonococos, o el medio de Sabouraud-cloranfenicol, para aislamiento de *Candida albicans*.

Medios especiales

Son aquellos que se emplean para el cultivo de ciertas bacterias muy particulares (p. ej., para micobacterias, leptospiras, anaerobios, etc.).

Medios de identificación o diferenciales

Son aquellos en los que no sólo crecen determinadas bacterias, sino que, además, éstas, al actuar sobre alguno de los componentes específicos del medio, demuestran algunas de sus propiedades. Por ejemplo, si al medio se le ha añadido un carbohidrato y un indicador y la bacteria es capaz de fermentar dicho carbohidrato, se producirá una acidificación, con el consiguiente viraje de color por cambio del pH. Dentro de ellos, existen, sobre todo, dos tipos: aquellos en los que sólo vamos a poder demostrar una determinada característica del microorganismo, tal como la utilización de un sustrato, la posesión de una enzima, etc., que se denominan únicos o simples, y aquellos en los que se detectan varias características de una forma simultánea, que se llaman múltiples o combinados (medio de Kligler.)

Unicos. Ejemplo de estos medios es el de la formación del indol, a partir del agua de peptona, que demuestra la existencia de una triptofanasa capaz de originar dicho producto a partir del triptófano del medio. El citrato de Simmons es un medio que lleva como única fuente de carbono citrato sódico y permite o no el crecimiento de la bacteria, si ésta es capaz de desarrollarse sólo con ese componente.

Combinados. Ejemplo de estos medios es el de Kligler, en el que simultáneamente se puede comprobar la posible utilización de la glucosa, la lactosa, la producción de sulfhídrico, la movilidad y la formación de gases, o el de TSI, en el que, además de los anteriores, se comprobará el posible uso de la sacarosa. El medio ornitina-movilidad estudia una prueba bioquímica y comprueba un carácter anatómico.

Microsistemas. Hoy en día, la preparación en el laboratorio de gran cantidad de medios, sobre todo para las pruebas bioquímicas de identificación, se ha hecho tan costosa y complicada que han surgido varios sistemas comerciales capaces de suministrar estos medios de forma estándar. Se trata de micrométodos capaces de permitir la identificación de bacterias sobre la base de diversos tests bioquímicos y a partir de una sola colonia bacteriana. Existen diversos procedimientos, con distintas variedades de pruebas, según se trate de la investigación de enterobacterias, anaerobios, etc.

Medios de transporte

Son los utilizados para asegurar la viabilidad de las bacterias desde el momento de la toma hasta su posterior siembra en el laboratorio o para su envío de unos laboratorios a otros (p. ej., medio de Stuart).

Medios de conservación

Intentan mantener la viabilidad y los caracteres morfológicos, fisiológicos, etc. Hoy se tiende a utilizar los métodos físicos de conservación: congelación, desecación y, principalmente, liofilización.

Un gran número de medios de cultivo usados en el laboratorio de microbiología son mixtos, es decir, con finalidades de varios grupos de los antes dichos. Así el agar S–S es un medio selectivo, en tanto que contiene un inhibidor (verde brillante) y un medio diferencial, pues al llevar lactosa y un indicador permite diferenciar las colonias fermentadoras o no de dicho disacárido. El medio de Thayer y Martin para *Neisseria* es a la vez un medio enriquecido (plasma) y selectivo, pues lleva como inhibidor de otra flora bacteriana y fúngica tres antibióticos (colistina, vancomicina y nistatina).

BIBLIOGRAFIA

Davis, B. D., y Dulbecco, R.: Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row, Hagerstown, 1980.
Dawes, I. W., y Sütherland, I. W.: Microbial Physiology. Halsted, New York, 1976.
Goodfellow, M., y Minnikin, D. E.: Chemical methods in bacterial systematics. Academic Press, New York, 1985.
Gottschalk, G.: Bacterial metabolism. Springer, Heidelberg, 1979.
Gunsalus, I. C., y Stanier, R. J.: The bacteria, vol. II Metabolism. Academic Press, New York, 1961.
Gunsalus, I. C., y Stanier, R. J.: The bacteria, vol. III Biosyntesis; vol. IV The physiology of growth. Academic Press. New York, 1962.

Haddock, B. A., y Jones, C. W.: Bacterial respiration. Bacteriol Rev., 41-47, 1977.
Institut Pasteur: Bactéries. Bactériophages. Mac Grow-Hill, Paris, 1975.
Madelstam, J.; MacQuillen, K., y Dawes, I. W.: Biochemistry of bacterial growth. Halstedt, New York, 1982.
Rose, A. H.: Chemical Microbiology, 3.ª ed. Plenum Press, New York, 1976.
Schlegel, H. G.: Microbiología general. Omega, Barcelona, 1975.
Sokatch J. R.: Bacterial phisiology and metabolism. Academic Press, New York, 1969.
Wilkinson, J. F.: Growth and Nutrition of Bacteria. En Mackie y McCartney (dirs.): Medical Microbiology, vol. I, 13.ª ed. Churchill Livingstone, New York, 1978.
Wolin, M. J.: Bacterial Metabolism. En Burrows Textbook of Microbiology, 21.ª ed., 56-120. W. B. Saunders, Philadelphia, 1979.

Capítulo 8

Bacteriófago

Gonzalo Piédrola-Angulo

Los bacteriófagos o fagos son virus parásitos de las bacterias. Como todos los virus, se caracterizan por su pequeño tamaño (entre 20 y 150 nm) y porque poseen un solo tipo de ácido nucleico, ARN o ADN, rodeado de un cápside proteico. Su estudio ha permitido esclarecer los mecanismos de la infección vírica en general y de la replicación en particular; de ahí su importancia en ciencias como la virología, bacteriología, genética y biología molecular.

MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA

Los fagos son visibles al microscopio electrónico, tras la coloración negativa con ácido fosfotúngstico. Tres son las principales formas halladas: fagos filamentosos, fagos icosaédricos y fagos de morfología compleja y simetría binaria, compuestos por una cabeza icosaédrica y una cola, con aparato de fijación o sin él.

Esta morfología así como el tipo de estructura del ácido nucleico han permitido clasificar los fagos en diversos grupos (fig. 8-1):

1. Fagos de simetría binaria, ADN bicatenario y cola contráctil. Especie tipo: fago T_2, representante de los fagos T-par.
2. Fagos de simetría binaria, ADN bicatenario y cola no retráctil: fago λ de *E. coli*.
3. Fagos icosaédricos sin cola de ADN monocatenario. Especie tipo: ΦX 174.
4. Fagos sin cola de ARN monocatenario. Especie tipo: colifago f2.
5. Fagos filamentosos de ADN monocatenario. Especie tipo: fago fd de *E. coli*.

Otros: el fago PM2 de *P. aeruginosa*, que posee como característica la presencia de un cápside rico en lípidos.

Fago T_2

El fago T_2, tomado como modelo de descripción de los fagos T-par, consta de las siguientes partes (fig. 8-2):

1. Una *cabeza* prismática hexagonal, de 95 nm de longitud por 65 nm de anchura, equivalente al cápside, que engloba el ácido nucleico en su interior.
2. Una *cola*, de 100 nm de longitud, que comprende un canal central, rodeado por una *cubierta* o vaina contráctil, de 2,5 nm de diámetro interior y 7,5 nm de exterior, formada por 24 anillos. Cada anillo, de 20 nm de diámetro, tiene una forma hexagonal y está constituido por 6 subunidades proteicas, lo que hace un total en la cola de 144 subunidades. La extremidad proximal de la cola presenta un *collar* de simetría hexagonal, ligado al vértice de la cabeza del icosaedro por un adaptador de simetría, de naturaleza proteica. La extremidad distal está constituida por una *placa* terminal de forma hexagonal, sobre la que se fijan 6 espículas (20 nm), que terminan en punta afilada. Cuando la cubierta de la cola se contrae, aparecen 6 filamentos muy finos o *fibras*, que antes se encontraban en el interior de aquélla.

El conjunto de la simetría cúbica de la cabeza y la helicoidal de la cola explica la simetría *binaria* de estos fagos (fig. 53-10).

Por microscopia electrónica se ha podido demostrar que el fago puede presentarse en dos fases diferentes. En la primera, la cabeza contrasta netamente del medio, la cubierta de la cola está extendida y la placa base presenta las prolongaciones cortas y gruesas. En la segunda, la cabeza ha perdido mucho contraste, la cubierta de la cola se encuentra en contracción y en la placa base se observa la presencia de los 6 largos y finos filamentos. La primera fase corresponde a un fago en reposo y la segunda, a un fago en contracción después de haber vaciado su ácido nucleico, y la cola representa un mecanismo de inyección del ácido nucleico.

Fago λ

El fago λ de *E. coli* presenta una cabeza simétrica, octaédrica o icosaédrica, de 60 nm de diámetro, y una cola flexible, de 160 a 200 nm de longitud, con una sola fibrilla en su extremidad (fig. 8-5).

Fago ΦX 174

El fago ΦX 174 posee una cabeza icosaédrica, de 25 a 30 nm, de diámetro, con unos abultamientos en los vértices de 3 nm.

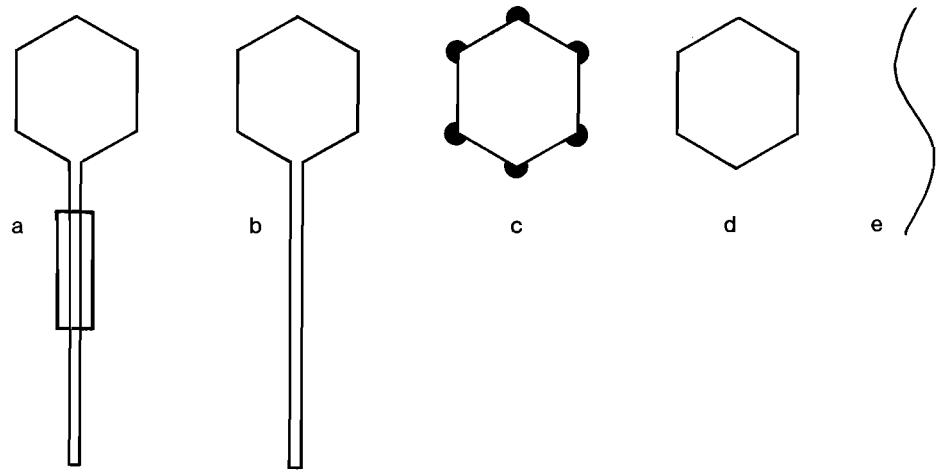


Fig. 8-1. Diferentes tipos de fagos (v. el texto). *a)* Fago con cola y cubierta contráctil. *b)* Fago con cola sin cubierta contráctil. *c)* Fago sin cola con simetría icosaédrica y abultamientos en los vértices. *d)* Fago sin cola con simetría icosaédrica. *e)* Fago filamentoso con simetría helicoidal.

Fago f2

Los fagos f2 se presentan en forma de partículas icosaédricas de 25 nm. Estos fagos se adsorben sobre los *pili* sexuales de tipo F de las bacterias.

Fago fd

Los colifagos fd se presentan como largos filamentos estrechos y flexibles, de 5 nm de anchura y hasta 850 nm de longitud. Se adsorben sobre los *pili* sexuales F de las bacterias y se liberan, sin lisis, de las bacterias que infectan.

COMPOSICION QUIMICA

Como todos los virus, los fagos están constituidos por proteínas y ácido nucleico, en una proporción cercana al 50 %. El ácido nucleico es el ADN o el ARN, nunca ambos a la vez. Las proteínas pueden ser pocas (dos o tres), hasta decenas de ellas, según el tamaño del fago y la codificación del ácido nucleico; aparecen como subunidades proteicas idénticas en la cabeza del fago. En los fagos T-par, las proteínas de la cola son múltiples: contráctiles, del collar, de la placa basal, de las espículas y de las fibras; cada una de ellas son diferentes química, funcional y antigénicamente.

El ADN de los bacteriófagos es conocido actualmente con todo detalle, lo que ha permitido estudios de gran interés genético e infeccioso. Así, el ADN bicatenario de los fagos T-par tiene un peso molecular de 130×10^6 daltons, consta de 200.000 nucleótidos y extendido tendría una longitud entre 55 y 60 µm. En este genoma del fago aparece una base pirimidínica especial: la 5-hidroximetil-citosina, que sustituye la citosina y no existe en la bacteria infectada. El ADN se encuentra en la mayoría de los fagos en forma de un largo filamento enrollado, excepto en algunos (ΦX 174), que es circular. En algunos fagos, el ácido nucleico hallado en su interior ha sido un ARN monocatenario, con un peso de 0,9-1,1 megadaltons, es decir, unos 3.000 nucleótidos, que corresponden a tan sólo 3 genes.

Las características morfológicas y otras del ácido nucleico y de los principales fagos se recogen en la tabla 8-1.

El cápside, constituido por las subunidades proteicas, se puede poner de manifiesto sometiendo el fago T_4 a un choque osmótico (en solución salina concentrada); el contenido de la cabeza libera el ADN (que puede destruirse por la desoxirribonucleasa) y permanecen los «ghosts» o fantasmas de los virus, que constituyen el 80 % de las proteínas y cuyo

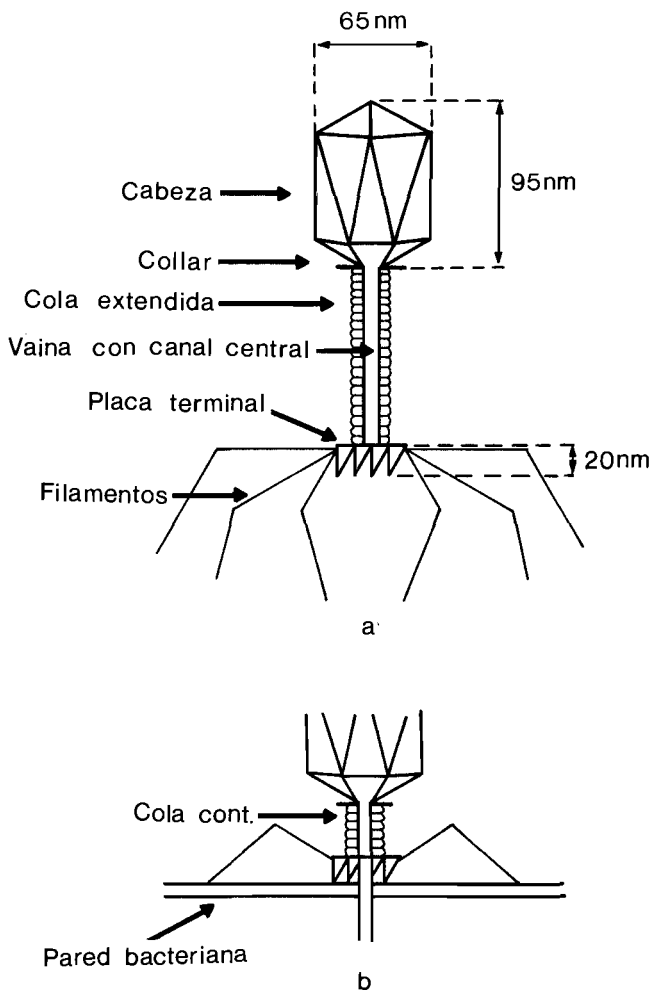


Fig. 8-2. Representación esquemática del fago T_2. *a)* El virión se encuentra con la cola no contraída y las fibras extendidas. *b)* La cola está contraída, las espículas, fijadas a la pared bacteriana y el canal central, en el interior del citoplasma.

Tabla 8-1. Características de algunos fagos

Fago	Morfología		Acido nucleico			Huésped	Período de latencia minutos	Tipo de virus	Observaciones
	Cabeza (nm)	Cola (nm)	Tipo	PM (megadaltons)	Cadenas				
T_1	Icosaedro, 50	10 × 150	ADN	250	2	*E. coli*	13	Virulento	Resistencia a la desecación
T_2, T_4, T_6	Icosaedro alargado, 65 × 95	25 × 110	ADN	120	2	*E. coli*	21-25	Virulento	Hidroximetil--citosina como base
T_3, T_7	Icosaedro, 47	10 × 150	ADN	24	2	*E. coli*	13	Virulento	
T_5	Icosaedro, 65	10 × 170	ADN	75	2	*E. coli*	40	Virulento	Inyección del ADN en dos tiempos
λ, Φ80	Icosaedro, 54	10 × 140	ADN	33	2	*E. coli*	35	Atemperado	Transducción restringida
P_1	Icosaedro, 65	12 × 150	ADN	60	2	*Salmonella*	45	Atemperado	Transducción generalizada
P_2	Icosaedro, 50	10 × 150	ADN	50	2	*Salmonella*	30	Atemperado	
ΦX174	Icosaedro, 30	No	ADN	1,7	1	*E. coli*	13	Virulento	ADN circular
f2, MS2	Icosaedro, 24	No	ARN	0,9-1,1	1	*E. coli*	22	Virulento	Adsorción sobre *pili* F
f1, fd	No	Filament. 6 × 800	ADN	1,3	1	*E. coli*	30	Virulento	Adsorción sobre *pili* F

monómero es un polipéptido de 80.000 daltons. Además, se libera un péptido y poliaminas del tipo de la espermidina y putrescina.

ACCION DE LOS AGENTES FISICOS Y QUIMICOS

Los bacteriófagos son sensibles a la acción de la mayoría de agentes físicos (desecación, calor, radiaciones) y químicos (formol, cloroformo, etc.), pero son resistentes a la mayoría de los antibióticos. Los fagos inactivados por la acción de las radiaciones ultravioletas no producen lisis de las bacterias, pero conservan su capacidad de fijación, lo que ocasiona la muerte bacteriana (acción letal).

ESTRUCTURA ANTIGENICA

Las fagos presentan diversos antígenos que no están relacionados con la bacteria infectada. Existen antígenos en la cabeza que son responsables de reacciones serológicas (fijación del complemento), y se han descrito tres antígenos en la cola, que en presencia de los anticuerpos específicos y por afectación de la zona combinante producen la neutralización del fago.

ACCION BIOLOGICA

Existen dos modalidades distintas en la acción de los fagos sobre las bacterias (fig. 8-3).

1. En unos casos, los fagos se adsorben a la superficie de la bacteria, inyectan el ácido nucleico, se multiplican en el citoplasma y liberan nuevos virus por lisis de la bacteria. Estos fagos se denominan *vegetativos* o *virulentos*, y el ciclo a que dan lugar, *productivo* o *lítico*. Algunos fagos muy virulentos o *intemperados* provocan efectos muy rápidos de lisis.

2. En otros casos, el fago no produce la lisis de la bacteria, sino que se integra en el cromosoma de ella y se replica sincrónicamente con él; se denomina entonces *profago*. El virus integrado no es infeccioso y queda en estado latente durante generaciones. La bacteria, que ha integrado el profago, se denomina *lisógena*, y el fenómeno lleva el nombre de *lisogenia* o *ciclo lisogénico*. El bacteriófago se denomina *atemperado*, atenuado o moderado.

Ciclo lítico o productivo

Se deben considerar tres grupos de fagos: fagos T-par, fagos con ADN monocatenario y fagos con ARN.

Fagos T-par

La lisis de una bacteria sensible por un fago virulento se produce en cinco fases:

Adsorción o adherencia. En el proceso de fijación de la partícula vírica sobre la superficie de las bacterias intervienen (fig. 8-4):

1. Receptores de la pared bacteriana, que serían sustancias químicas específicas para cada fago, de naturaleza lipoproteica, polisacárida o ambas. Su síntesis está gobernada por el genoma bacteriano, por lo que un proceso de mutación puede convertir una bacteria en fagorresistente. Se cal-

cula que una bacteria posee entre 200 y 300 receptores. Cuando los receptores, que condicionan la sensibilidad, son comunes a diversas especies bacterianas, se obtiene un fago polivalente o de amplio espectro; si son comunes a todas las bacterias de una misma especie, tenemos un fago monovalente o de corto espectro; por último, cuando son comunes sólo a algunas bacterias de la especie, se pueden establecer diferencias entre ellas y constituir la base de los lisotipos o fagotipos.

2. La placa terminal o basal del fago, que se pone en contacto con el sitio receptor, y las fibras caudales, que mantienen esa fijación. La naturaleza exacta de la interacción entre los receptores bacterianos y las proteínas de unión de la cola del fago no es bien conocida.

3. Presencia de cofactores de adsorción: iones calcio y magnesio, aminoácidos (triptófano en T_4), etc.

4. Por último, la adsorción depende de la concentración relativa de bacterias y fagos en el medio.

Penetración o inyección. Una lisozima fágica, localizada en la cola del fago, despolimeriza las uniones de acetil-murámico y acetil-glucosamina del mucopéptido parietal, lo que disminuye en un punto la rigidez de la pared, creando una verdadera microperforación. En ocasiones, cuando centenares de fagos se fijan sobre la misma bacteria, provocan su estallido: es el fenómeno de la *lisis desde el exterior*, que tiene lugar antes de la infección propiamente dicha.

A continuación, la contracción de la vaina o cubierta helicoidal de la cola hace penetrar el canal central en el citoplasma, como la aguja de una jeringa, a la vez que se impulsa el paso del ácido nucleico hacia el interior. La contracción de la cubierta de la cola se debe a la presencia en el fago T_2 de unas 100 moléculas de ATP.

El ADN fágico se desenrolla, deja el cápside y, a través del canal central, penetra poco a poco en el citoplasma bacteriano. Asimismo parece que pequeñas cantidades de proteínas, péptidos y poliaminas pasarían al interior. En la superficie de la bacteria, las envolturas proteicas aparecen ahora vacías (*ghosts* o fantasmas), fijas a la bacteria o bien libres. Así pues, el cápside no desempeña papel alguno en el ciclo de la infección, pero sí lo tiene como envoltura protectora, aparato específico de fijación y mecanismo inyector del ADN en la bacteria.

Multiplicación: fase de eclipse. Esta fase, de 5 a 10 minutos de duración, se caracteriza por la interrupción de la síntesis y demás procesos metabólicos bacterianos y por la inducción de enzimas que van a dirigir la síntesis fágica. En primer lugar, el ADN bacteriano es desintegrado por una desoxirribonucleasa inducida por el ADN fágico; esto comporta el cese de la síntesis proteica y del proceso de replicación, pero se conserva la capacidad funcional de ambos. Así, la síntesis del nuevo ADN y de las proteínas fágicas cuenta con los ARN ribosómico y de transferencia de la bacteria infectada, más las enzimas que codifica el genoma del fago.

El primer elemento sintetizado es un ARN mensajero, codificado por el ADN fágico. Las enzimas, unas son nuevas, como la desoxi-citidilato-hidroximetilasa (que sintetiza la 5-hidroximetilcitosina), y otras estaban presentes en la bacteria, pero ahora especificadas por el fago, como la timidín-quinasa, la glucosil-transferasa, timidilato-sintetasa y la ADN-polimerasa. Con todas ellas se va sintetizando el nuevo ADN fágico, que aparece entre el 6.º y 25.º minuto después de la infección.

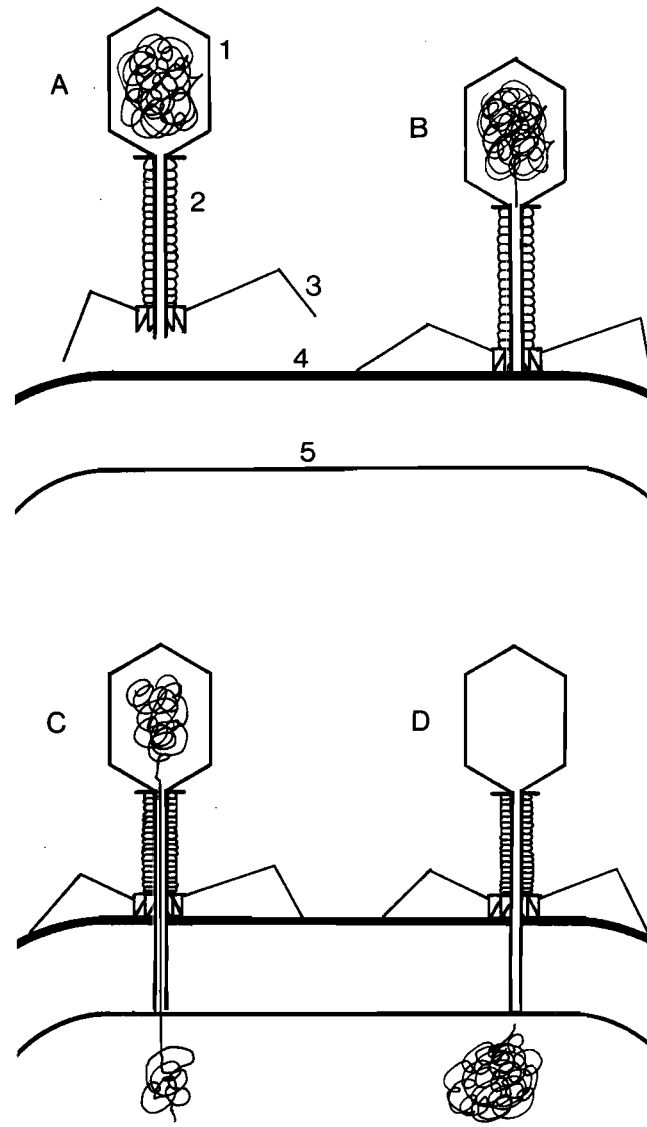


Fig. 8-3. Entrada de un fago T_2 en la célula huésped. A) El fago con su cabeza que contiene el ADN (1) y la cubierta contráctil con su canal central (2), que termina en la placa con espículas y fibrillas (3). La pared celular (4) y la membrana citoplásmica (5) de la bacteria. B) Contacto del fago libre con las capas más externas de la pared celular. C) Contracción de la vaina y paso del ADN hacia el interior del citoplasma. D) El paso del ADN se ha completado. La cabeza del fago está vacía *(ghosts)* y el ciclo de multiplicación puede comenzar.

Hacia el 9.º minuto aparecen las primeras nuevas proteínas de la cabeza y cola víricas; estas síntesis se efectúan en los ribosomas bacterianos, a partir de aminoácidos preexistentes y regidos por el ARN mensajero fágico.

En definitiva, toda la célula bacteriana, sin ADN propio, se encuentra «trabajando» para el bacteriófago, si bien los constituyentes sintetizados aún no se combinan entre sí para formar partículas completas.

Multiplicación: fase de maduración. A la fase anterior de eclipse, llamada así porque no se pueden demostrar los fagos en el interior de la bacteria, le sigue la de madura-

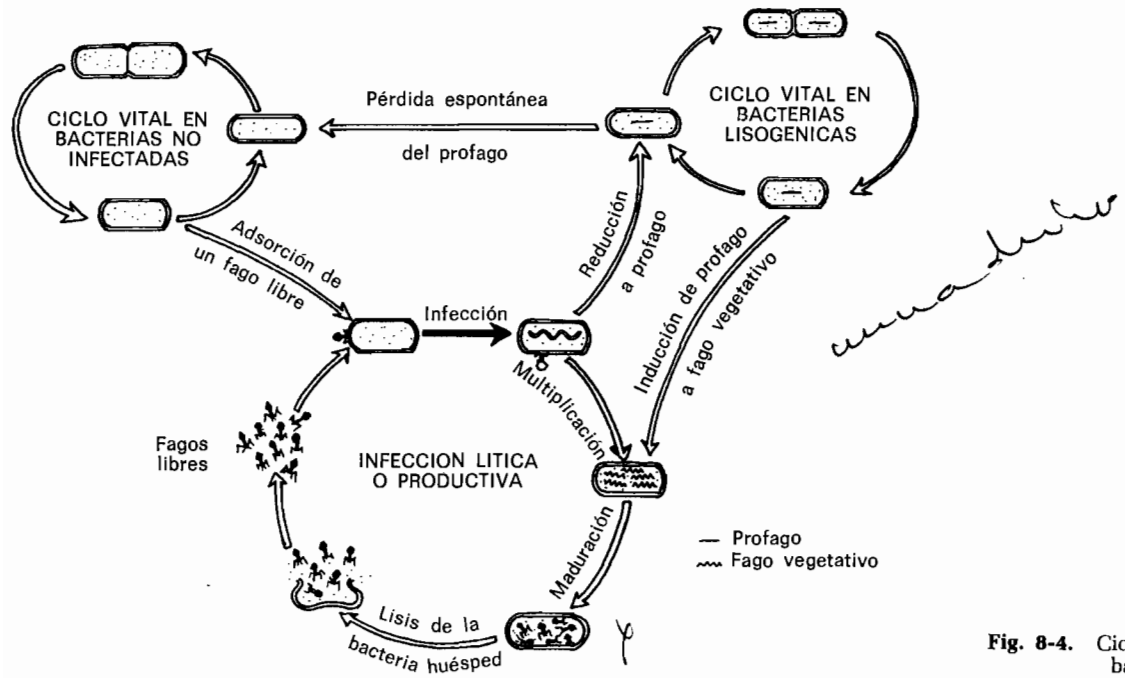


Fig. 8-4. Ciclos vitales en la relación bacteria-fago.

ción, en la que hacia el 12.º minuto van a incorporarse moléculas de ADN sintetizado a las proteínas estructurales y aparecen ya partículas víricas completas en el citoplasma.

El mecanismo íntimo no es bien conocido: el ADN se condensaría y envolvería por las subunidades proteicas de la cabeza; las otras subunidades se irían reuniendo y, por último, se verificaría el ensamblaje de cabeza, cola y placa. Todo el proceso sería controlado por sistemas reguladores codificados en el ADN fágico.

En el proceso de maduración pueden producirse partículas incompletas por «fallos» del ensamblaje: partículas vacías, colas o cabezas solas, etc.

Liberación. Hacia el 24.º minuto, la pared bacteriana es atacada por una lisozima fágica, sintetizada en fase tardía, que produce la lisis de aquélla, y se liberan unas 200 nuevas partículas fágicas. A la vez se liberan las partículas incompletas, moléculas de ADN y proteínas libres.

Si los fagos maduros encuentran nuevas bacterias sensibles, el ciclo productivo comienza de nuevo, y se trata, por tanto, de una verdadera enfermedad infecciosa de las bacterias, con un ciclo de infección *horizontal*.

Fagos ADN monocatenarios

Los fagos de tipo ΦX 174 se adsorben y penetran a través de la pared bacteriana por mecanismos no bien conocidos. La replicación se haría previa síntesis de otro ADN complementario (gracias a una ADN-polimerasa bacteriana), que unido al del fago actuaría como molécula de doble hélice. Una replicasa de origen vírico serviría, a partir de estas formas replicativas, para la síntesis de los ADN de futuros fagos. Los procesos bacterianos de síntesis proteica y de los ácidos nucleicos parecen no alterarse por la infección de este fago, que, por otra parte, provoca la formación de esferoplastos, que posteriormente son lisados.

Los fagos filamentosos, del tipo fd, se fijarían a la extremidad de los *pili* sexuales de las bacterias masculinas y parece ser que su ADN penetraría por el canal de los *pili*, que acabaría retrayéndose en el citoplasma y el ácido nucleico fágico pasaría al interior.

El proceso de replicación sería semejante al de los fagos ΦX 174, y los viriones filamentosos neoformados se expulsarían a través de la pared bacteriana, en el justo momento de la división.

Fagos ARN

Los fagos ARN sólo se fijan sobre los *pili* sexuales de las bacterias masculinas. En una primera fase, la adsorción se realiza en cualquier punto del *pilus*, con la proteína A del fago; el ARN penetra por la luz del *pilus* y, tras la retracción de éste, penetra en el citoplasma.

El filamento de ARN (el más pequeño conocido, de unos 10^6 daltons) lleva información para tres proteínas solamente: la proteína A (de ensamblaje o encapsidación, 340 aminoácidos), la proteína del cápside y una replicasa (ARN-sintetasa). Las tres se encontrarían en este orden, de la extremidad 5′ a la 3′ del ARN.

Hasta el 15.º minuto dura la fase de eclipse, en la que se sintetizan las partículas constituyentes. El ARN actúa con una doble función:

1. Como ARN mensajero y utilizando los aminoácidos, el ARN de transferencia y el ribosómico de la bacteria realizan la síntesis de las tres proteínas antes citadas.
2. Como matriz y gracias a la replicasa sintetizada, va a dar lugar a gran número de ARN de los futuros fagos. Esto se realiza a través de una transcripción a una cadena complementaria (llamada forma –) y, por la replicasa que toma como matriz la forma –, va a sintetizar nuevas cadenas +, similares a la forma preexistente.

Las nuevas formas + pueden servir de ARN mensajero, matriz o asociarse a las proteínas estructurales y encapsidarse, utilizando para ello 180 moléculas de subunidades proteicas del cápside y una molécula de proteína A. La bacteria se lisa entre 22 y 60 minutos tras el comienzo de la infección, y se liberan hasta 40.000 nuevos virus por cada célula infectada.

Caracteres de la lisis bacteriofágica

Para que se dé el ciclo lítico o productivo, es necesario:

1. Que el fago sea virulento.
2. Que en la pared bacteriana o en los *pili* existan receptores específicos.
3. Que la bacteria se encuentre en fase de multiplicación.

El fenómeno de la lisis bacteriofágica se observa en los cultivos. En los cultivos en medio líquido se manifiesta por el aclaramiento de la turbidez del medio y en los cultivos sólidos, por el aspecto irregular de las colonias (colonias mordidas) o la aparición de las llamadas placas de lisis, que corresponden a la lisis producida por un solo fago. La morfología de las placas de lisis, en cuanto a tamaño, forma, aspecto de los bordes, etc., es una característica específica de cada fago.

Ciclo lisogénico o reductivo

Existen fagos que, cuando infectan una bacteria, pueden dar lugar a un ciclo de multiplicación completo hasta llegar a la lisis celular o bien, tras la inyección de su ácido nucleico, integran éste en el ADN del cromosoma celular bacteriano *(lisogenización)*. La bacteria sobrevive y continúa su replicación de tal forma que el genoma bacteriano se divide al mismo tiempo que el vírico.

Las bacterias, que sobreviven a la infección por un fago *atemperado* o *moderado*, se denominan *lisógenas* y son susceptibles en determinadas condiciones de ser lisadas espontáneamente o tras un proceso de inducción y liberar entonces partículas infecciosas; esta propiedad es transmisible a la descendencia y se ha denominado infección *vertical*. Las bacterias así lisogenizadas adquieren nuevos caracteres, que no tenían antes (conversión, cap. 9). En algunos casos, la lisogenia puede perderse espontáneamente, sin que se conozca la causa de dicho fenómeno (fig. 8-4).

En los virus atemperados, el ADN es siempre bicatenario y puede integrarse en el cromosoma bajo una forma letal potencial, que es el *profago*, constituido por una copia del ADN fágico, insertada en un sitio específico y que lleva los determinantes genéticos del virus. La integración se encuentra bajo la dependencia de un gen fágico, el gen *int*, que es responsable de la producción de una proteína, la *integrasa*, necesaria para dicha unión.

Pero el ADN fágico tiene la posibilidad también de no integrarse y quedar libre en el citoplasma bacteriano como fago vegetativo, a modo de un plásmido (p. ej., el fago p 1 de *Salmonella*).

En resumen, en el ciclo lisogénico o reductivo podemos comprobar las siguientes etapas (fig. 8-4):

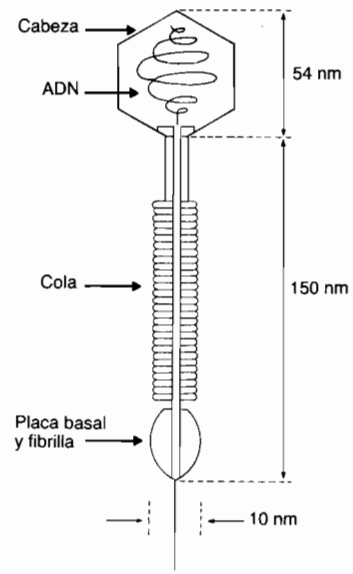


Fig. 8-5. El bacteriófago λ.

1. Adsorción.
2. Penetración. Ambas iguales que el ciclo lítico.
3. Integración. Se trata de un proceso complejo, hoy día bien conocido en el caso del fago λ de *E. coli* K 12 (fig. 8-5). Este fago posee un mapa genético perfectamente conocido (fig. 8-6), lo que permite el estudio en detalle del proceso. El profago se integra entre los genes galactosa *(gal)* y biotina *(bio)* del ADN bacteriano. La integración requiere la recircularización de la molécula viral (fig. 8-7).

Inmunidad

La bacteria lisógena es inmune a la infección por el fago homólogo del profago que ella vehicula. Además, las funciones implicadas en el ciclo lítico no son «expresadas» por el profago. Ambos hechos provienen de que el profago sintetiza continuamente un represor específico, que reprime la expresión de las funciones víricas, por su acción sobre los operones correspondientes. El represor es una proteína codificada por el gen cI. La inmunidad depende, pues, de dos diferentes determinantes: la capacidad de sintetizar el represor y la sensibilidad a él, que necesitan los segmentos operadores. Represor y operadores son muy específicos para cada fago en una bacteria determinada. La regulación de la lisogenia es, por tanto, un sistema muy complicado, hoy bien conocido, en el que intervienen los genes antes citados, más otros (*cro*, *Or*, *Pr*, *N*, etc.), que a su vez los controlan.

En la figura 8-4 se exponen los ciclos lítico y lisogénico, así como sus relaciones.

Lisis espontánea

En 1 de cada 1.000 a 100.000 células lisogenizadas, aproximadamente, es interrumpida la síntesis del represor o ésta se hace a niveles muy bajos, y como consecuencia son

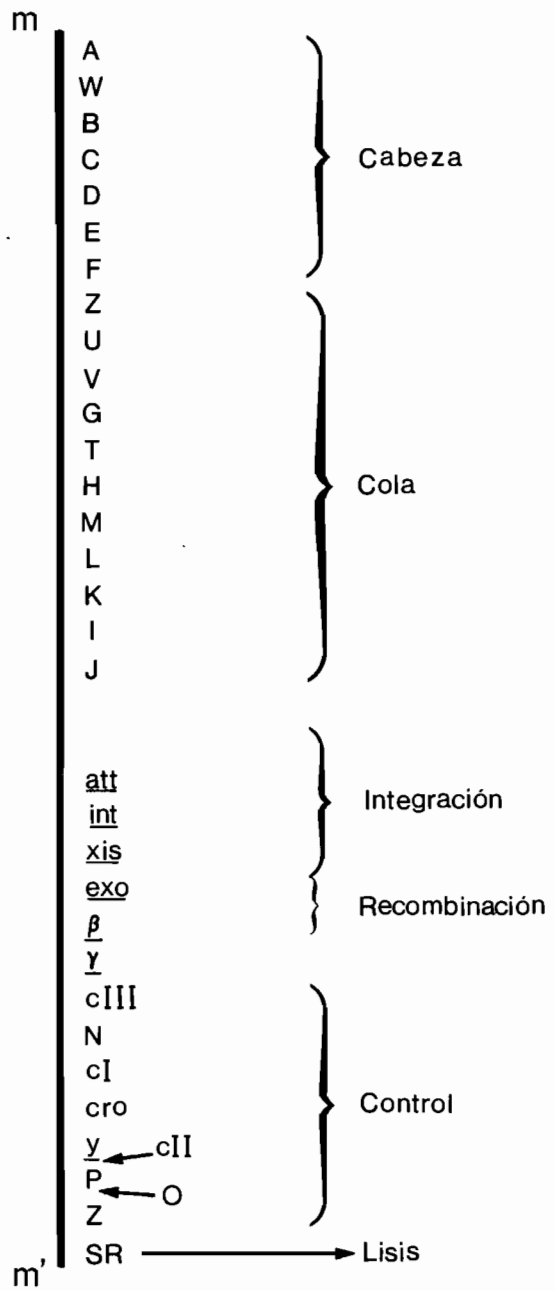


Fig. 8-6. Mapa genético del bacteriófago λ. m y m′ extremos; A-F, formación del cápside y maduración del ADN; Z-J, formación de la cola; SR, lisis del huésped; att, zona de *crossing-over*; int, factor de integración; xis, factor de escisión; exo y β, determinantes de recombinación general del ADN; γ, inhibición de la nuclease; cIII, cI, cro e y, genes de control de la lisogenización; N, gen de control positivo; O y P, genes de replicación del ADN.

expresados los genes λ; el profago es separado del cromosoma de la bacteria y los genes λ inician un ciclo lítico, que conducirá a la lisis de la célula huésped. La liberación de partículas fágicas en el medio de cultivo de una cepa lisogénica carece de consecuencias para el resto de las bacterias, puesto que son inmunes a la superinfección por partículas infecciosas λ. Hará falta, para demostrar la presencia del fago, utilizar una cepa bacteriana sensible, que se lise por su acción (cepa indicadora).

Inducción

Determinados agentes físicos o químicos son capaces de aumentar la probabilidad del cambio de estado del profago a fago vegetativo; este proceso se conoce con el nombre de *inducción* y la bacteria, como *inducible*. Agentes inductores son la irradiación con rayos ultravioletas, rayos X, rayos γ, sustancias reductoras (ácido ascórbico, glutatión, ácido tiomálico, etc.) y mutagénicas (mostazas nitrogenadas, agua oxigenada, mitomicina C, etc.). Todos ellos provocan rápidamente la lisis de la mayoría de las bacterias inductibles.

La acción inductora puede ser inhibida, si se exponen las bacterias a la acción de la luz solar, poco tiempo después de la inducción (fotorreactivación). Existen fagos atemperados que, al ser capaces de una lisis espontánea, no son inductibles por agentes físico-químicos. Esos fagos son llamados no inductibles.

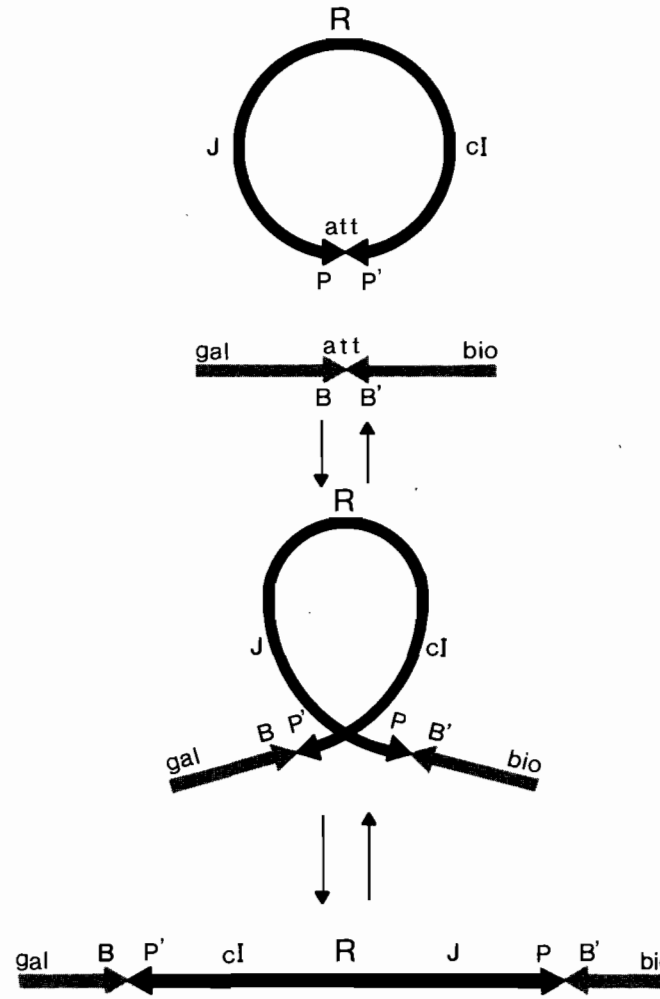


Fig. 8-7. Integración o escisión del profago λ, según el modelo de Campbell. La integrasa cataliza un *crossing-over* entre ambos ADN, en un sitio definido del fago, la zona att, zona diferente del sitio de apertura de la molécula vegetativa (m, m′). Las zonas att del fago y de la bacteria se ha demostrado que no son estrictamente homólogas; estas regiones, llamadas PP′ (la del fago) y BB′ (bacterianas), permiten el *crossing-over* entre dichos sustratos, para dar BP′ y PB′, en presencia de int. En presencia de xis, se obtiene la reacción inversa. Se ha comprobado que la integración del fago puede realizarse en sitios secundarios, que son diferentes al BB′.

En resumen, son características del ciclo reductivo o lisogénico las siguientes:

1. Necesidad de la infección por un fago atenuado o atemperado.
2. Integración, en el cromosoma bacteriano, del ADN fágico, con su transmisión a la descendencia.
3. La bacteria lisogenizada es inmune a los fagos homólogos.
4. La aparición de fagos libres en un cultivo de bacterias lisógenas puede ser incrementada mediante un proceso de inducción.
5. La lisogenia, el mantenimiento del estado lisogénico y la inmunidad a la reinfección están ligados a una proteína represora, cuya información es vehiculada por el ADN vírico.
6. La integración de un profago puede dar a la bacteria características que antes no tenía: conversión lisogénica.
7. Los fagos pueden intervenir en los fenómenos de transferencia genética: la transducción. (Estos dos hechos son estudiados a continuación.)

Fenómenos de transferencia genética

Las bacterias lisogénicas pueden presentar propiedades diferentes de la bacteria original de la que derivan, a consecuencia de modificaciones de su genoma, que pueden ser debidas exclusivamente a la presencia del profago que se comporta como un nuevo gen bacteriano (conversión) o de genes de otra bacteria que han sido transportados por el fago (transducción); son fenómenos de transferencia genética que son estudiados en el capítulo siguiente.

Estas modificaciones del genotipo, en especial el fenómeno de conversión, pueden afectar las propiedades bioquímicas, antigénicas y toxigénicas de la bacteria, así como su sensibilidad a otros fagos y a la acción de quimioterápicos y antibióticos. Así, se ha demostrado que las cepas toxigénicas de *C. diphteriae* son lisógenas para el fago β, de manera que la pérdida de la lisogenia va asociada a la pérdida de la capacidad tóxica, y la lisogenización de una cepa no toxígena por el fago β la convierte en toxigénica. Lo mismo ocurre con el *Streptococcus pyogenes* y la toxina eritrogénica responsable de la escarlatina. Algunos serotipos de *Salmonella* son lisógenos y la pérdida del profago o la adquisición de uno nuevo van ligadas a modificaciones antigénicas y a veces a cambio del serotipo (fagos determinantes de tipo). Asimismo, la clasificación en fagotipos o lisotipos de *S. typhi, S. paratyphi B, E. coli* productores de gastroenteritis infantiles y estafilococos patógenos depende en gran parte de la infección por diversos fagos moderados.

GENETICA

Los estudios genéticos sobre los fagos han sido de incalculable valor en la genética moderna. Los fagos, al igual que las bacterias, pueden sufrir variaciones fenotípicas y genotípicas (cap. 9), y dentro de éstas mutaciones y fenómenos de transferencia genética. En este caso, el *clon*, o población descendente de un mismo individuo, estaría representado por la placa de lisis en un medio de cultivo sólido.

Las mutaciones pueden ser espontáneas o inducidas y afectar la mayoría de las propiedades del fago, en especial la virulencia y espectro de acción, y es posible obtener fagos específicos para determinadas especies y otros que permiten subdividir las especies en fagotipos o lisotipos.

Cuando dos fagos relacionados penetran en una bacteria, se puede producir una infección doble con lisis de la bacteria; en este caso se pueden aislar fagos que presentan caracteres idénticos a los fagos originales y otros con caracteres intermedios (recombinantes). Al conocer la frecuencia de recombinación de los diferentes caracteres, se han podido construir los mapas genéticos de algunos fagos (T_2 y T_4).

RELACION ENTRE FAGOS Y BACTERIOCINAS

Las bacteriocinas son sustancias bactericidas específicas, producidas por las bacterias y activas sobre otras cepas de la misma especie u otras especies, e incluso géneros totalmente diferentes. Tras numerosos estudios al microscopio electrónico de las bacteriocinas, que no son capaces de reproducirse como los fagos, se distinguen dos tipos principales:

1. Bacteriocinas grandes, termolábiles a 80 °C y que son similares a los fagos completos o a partes de ellos.
2. Bacteriocinas pequeñas, termoestables a 100 °C y que parecen ser constituyentes de la pared bacteriana de la célula productora.

Las bacteriocinas grandes, al microscopio electrónico, pueden aparecer de diversas formas:

1. La colicina 15 se presenta bajo la forma de una partícula fágica completa, con cabeza que contiene un ADN y cola contráctil.
2. La monocina (producida por *Listeria monocytogenes*) se presenta como una partícula fágica completa, con cola contráctil y cabeza, pero ésta se encuentra vacía, sin ácido nucleico.
3. La piocina 28 (de *Pseudomonas aeruginosa*) está constituida por una cola, contráctil o no, sin cabeza.

En el momento actual se considera que las bacteriocinas podrían representar diversas fases de evolución de los plásmidos integrados o bacteriófagos completos, lo que explicaría las diversas morfologías observadas.

APLICACIONES PRACTICAS

La lisis bacteriofágica es un fenómeno general, y se ha demostrado la presencia de fagos activos frente a la mayoría de especies bacterianas, con pocas excepciones. Como los fagos son parásitos estrictos, se encuentran en aquellos medios naturales donde existe la bacteria sensible; así, por filtración de líquidos purulentos, serosidades, etc., se pueden aislar fagos estafilocócicos; de las heces, aguas residuales, ríos, canales y aun de agua de abastecimiento contaminada, se pueden aislar fagos activos frente a diversas enterobacterias, etc.

Por los hechos citados anteriormente parecería deducirse que el aislamiento de bacterias lisógenas constituiría una rareza o curiosidad de laboratorio, pero en la actualidad se sabe que estos fenómenos son frecuentes y gran número de

bacterias son lisógenas, lo que se puede demostrar cuando se encuentra la cepa indicadora.

Fagoterapia

Durante mucho tiempo se consideró que el bacteriófago se podría utilizar con éxito en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, pero las esperanzas que se habían puesto en este método no han podido confirmarse, debido fundamentalmente a la dificultad de obtener en poco tiempo fagos que estuvieran bien adaptados a la cepa causal del proceso y a la rápida aparición de anticuerpos antifágicos y de cepas resistentes.

Diagnóstico por fagos

La búsqueda de bacteriófagos no presenta interés como método de diagnóstico, en relación a los clásicos de aislamiento e identificación bioquímica y serológica de una bacteria problema. Pero, en algunos casos, un fago específico puede ser utilizado para identificar una especie bacteriana. Así, los fagos *Tb, Weybridge* y *Berkeley* son de gran interés en la diferenciación de las especies del género *Brucella;* el fago IV de Mukerjee permite diferenciar *Vibrio cholerae,* sensible a este fago, de *V. eltor,* que es resistente.

Lisotipia o fagotipia

Dentro de una misma especie, las bacterias pueden presentar receptores específicos para diferentes fagos. La lisotipia, o tipado bacteriofágico, es un método de laboratorio que permite dividir una especie bacteriana en diversos tipos, según su comportamiento frente a una serie de fagos.

La lisotipia de *S. typhi* es una de las mejor conocidas. Después del descubrimiento del antígeno Vi se aislaron diversos fagos activos sobre las cepas de *S. typhi* con antígeno Vi. Uno de estos fagos, el fago Vi II, presentaba una gran capacidad de mutación y, por adaptación a gran número de cepas de *S. typhi* con antígeno Vi aisladas de diferentes orígenes, se obtuvieron un gran número de fagos específicos (mutantes) que han permitido dividir las cepas de *S. typhi* con antígeno Vi en más de 65 lisotipos.

De la misma manera, se han podido dividir las cepas de *S. paratyphi B, S. paratyphi A, S. typhimurium, E. coli,* estafilococos patógenos y *Pseudomonas aeruginosa.*

La importancia de esta clasificación estriba en que los diversos lisotipos son estables, es decir, las bacterias aisladas del enfermo en el curso de su enfermedad, convalecencia, período de portador e infecciones transmitidas a otras personas pertenecen al mismo lisotipo. Este hecho tiene gran interés en epidemiología, porque permite llegar a la definición de foco, como aquellos casos producidos por el mismo lisotipo; por el contrario, cuando de un conjunto de casos se aíslan diferentes fagotipos, indica que existen diversos focos de infección. Estudiando cronológicamente los casos producidos por un mismo lisotipo, se puede seguir la cadena de infección en sentido retrógrado y llegar hasta el origen y, como consecuencia, detectar los portadores crónicos, que son la causa del mantenimiento de la fiebre tifoidea en las comunidades urbanas. Asimismo, la lisotipia permite conocer en una región, país o continente la distribución de los lisotipos de una especie bacteriana responsable de cuadros clínicos (sobre todo, salmonelosis) y conocer su evolución a lo largo del tiempo, así como la presencia de nuevos casos, autóctonos o importados.

BIBLIOGRAFIA

Anderson, T. F.: Bacterial Viruses. En Gunsalus, I. C., y Stanier, R. Y. (dirs.): The bacteria, vol. I, 387-414. Academic Press, London, 1960.

Brachet, P.: Régulation de la transcription chez les phages virulents. En Gasser F. (dir.): Bactéries Bactériophages, 461-474. McGraw-Hill, París, 1974.

Dulbecco, R., y Ginsberg, H. S.: Virology. En David, B. D., y cols. (dirs.): Microbiology, 2.ª ed., 1007-1119. Harper and Row, Maryland, 1973.

Girard, M.: Les bactériophages à ARN. En Gasser, F. (dir.): Bactéries Bactériophages, 475-498. McGraw-Hill, Paris, 1974.

Hershey, A. D.: The bacteriophage Lambda. Cold Spring Harbor, New York, 1046, 1971.

Moustardier, G.: Virologie Médicale, 4.ª ed., 135-177. Lib. Maloine, Paris, 1973.

Pereira da Silva, L.: Introduction a l'étude des bactériophages. En Gasser, F. (dir.): Bactéries Bactériophages, 445-459, McGraw-Hill, Paris, 1974.

Pumarola, A.: Bacteriófago. En Matilla, V., y cols. (dirs.): Microbiología y Parasitología, 6.ª ed., 79-87. Amaro, Madrid, 1980.

Capítulo 9

Genética bacteriana

Gonzalo Piédrola-Angulo

La información genética en las bacterias, como en toda célula, se encuentra contenida en la secuencia de nucleótidos del ADN cromosómico. El conjunto de los caracteres genéticos que la bacteria posee es el llamado genotipo, capaz de transmitirse a la descendencia; sin embargo, no todos estos caracteres se manifiestan, sino que el medio ambiente condiciona la aparición o no de ellos. De ahí que se denomina *fenotipo* al conjunto de caracteres manifestados por interacción del genotipo y el medio ambiente.

Las modificaciones que pueden aparecer en los caracteres de las poblaciones bacterianas pueden afectar su fenotipo o genotipo. En el primer caso se trata de *variaciones* fenotípicas y adaptaciones que aparecen ligadas a las condiciones ambientales que inducen o reprimen la expresión genética. En el segundo caso, se trata de variaciones genotípicas, que pueden ser *mutaciones* o *fenómenos de transferencia de material genético.*

VARIACIONES FENOTIPICAS O ADAPTACIONES

Son modificaciones del fenotipo debidas a cambios ambientales sin relación con el genoma, sobre el que no hay repercusión alguna (no son transmisibles hereditariamente). Las bacterias presentan una serie de propiedades, según el medio ambiente donde se desarrollen; estas propiedades son susceptibles de cambios, según las modificaciones de dicho medio.

Las variaciones se caracterizan en que afectan la mayoría de la población bacteriana sometida a la modificación ambiental y son reversibles, al desaparecer las circunstancias externas que las indujeron.

Por ejemplo, las bacterias flageladas, cuando se cultivan en agar con 0,1 % de fenol o cloruro de litio, pierden la capacidad de formar flagelos.

Las variaciones pueden ser de distintos tipos:

1. Morfológicas, como los cambios de forma, tamaño, tinción, aparición de flagelos, esporos, etc., que aparecen modificando el pH, presión osmótica y tratamiento con productos químicos o antibacterianos.
2. Cromógenas, como la no producción de pigmento rojo por *Serratia marcescens* a 37 °C, pero sí a temperatura más baja.
3. Enzimáticas, como *E. coli*, que no secreta una enzima inducible, la β-galactosidasa, más que en presencia de lactosa en el medio.
4. Patogénicas, como *Corynebacterium diphteriae*, que, lisogenizado por un fago β, secreta o no una toxina proteica, según la concentración del ion hierro en el medio.

Sin embargo, la separación entre variaciones fenotípicas y genotípicas no es tan tajante como parecería deducirse de las consideraciones anteriores, sino que muchas veces ambas se imbrican. Así, un factor ambiental, que no modifica el genotipo bacteriano, lo que sí puede hacer es seleccionar unas mutantes genotípicas, cuyo resultado es el observado en el experimento.

MUTACIONES

Son cambios espontáneos, irreversibles y hereditarios de un carácter de la bacteria y no dependientes de la incorporación de material genético de otro organismo. La bacteria con las propiedades originales se denomina salvaje y la que varía con respecto a ella, *mutante*. Bioquímicamente son alteraciones en la secuencia de nucleótidos del ADN cromosómico o extracromosómico. Esto lleva a la producción de proteínas, que tienen alteradas sus secuencias de aminoácidos, al realizarse la traducción. La nueva proteína formada puede no producir cambio observable en la función, alterarla o incluso producir una proteína no funcional; si dicha proteína es esencial, la mutación es letal.

Ya que la mutación puede ocurrir en uno de los centenares de genes de la célula, y mutaciones diferentes en el mismo gen pueden producir diversos efectos en la célula, el número posible de mutaciones es enorme.

Las mutaciones bacterianas, como las de organismos superiores, se caracterizan por:

Baja frecuencia. En las bacterias, la probabilidad de una mutación es análoga a la observada en los seres superiores: 1 por 10^4 a 1 por 10^{10} células (media, 10^{-8}). Una colonia bacteriana puede concebirse como una colonia de bacterias genéticamente idénticas, pero en las 10^8-10^9 bacterias (cada una aproximadamente con 3.000 genes), que constituyen la colonia, pueden existir alrededor del millar de mutaciones

diferentes, que afectan diversos genes de la célula madre. Por ello, una colonia bacteriana contiene una pequeña proporción de mutantes, que pueden manifestarse por las condiciones ambientales posteriores. Las mutaciones bacterianas son mucho más fáciles de observar que en los seres superiores, en razón de la masa de las poblaciones bacterianas, el breve tiempo de generación y el estado haploide del genoma (al ser un solo cromosoma, se evitan los problemas del carácter recesivo).

Especificidad. Cada mutación afecta uno o, más raramente, varios caracteres determinados. Si la mutación surge como consecuencia de la alteración de un solo nucleótido, se denomina *puntual*. Son múltiples los ejemplos de la especificidad de las mutaciones: cepas de *Escherichia coli* capaces de sintetizar aminoácidos (cepas prototrofas) dan mutantes incapaces de sintetizar alguno determinado (mutante auxotrofa). Cepas de *E. coli* sensibles a la estreptomicina dan lugar a poblaciones bacterianas con mutantes resistentes a dicho antibiótico.

Estabilidad. El carácter heredado por la mutación se transmite a la descendencia y sólo se puede volver al carácter original por otra mutación (mutación reversa, hacia atrás o reversión).

Espontaneidad. La mutante se produce de forma independiente al agente selector de la mutación. El ejemplo más claro y de interés clínico patente es cómo se pueden seleccionar mutantes resistentes a un antibiótico sin haber estado en contacto con él. Es la experiencia de las réplicas de Lederberg (fig. 9-1).

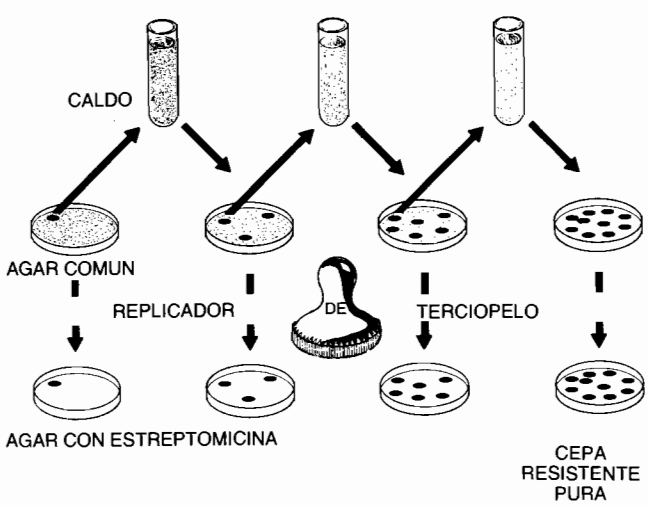


Fig. 9-1. Método de las réplicas de Lederberg, que demuestra que los antibióticos no determinan la resistencia, pero seleccionan las cepas ya resistentes. Se siembra la placa de Petri con una gran cantidad de bacterias sensibles y, tras varias horas de incubación, se aplica un cilindro recubierto de terciopelo, del mismo diámetro de la placa, de tal forma que los pelos del terciopelo actúan como «sembradores» de la segunda placa, en la que sólo crecerán colonias estreptomicinresistentes. Una vez crecida una colonia, se superponen las placas, marcando con una x la presumiblemente resistente, que se siembra en caldo y se vierte sobre una nueva placa. Repitiendo la técnica varias veces, se observa cómo el número de mutantes resistentes va aumentando hasta conseguir una cepa resistente pura, que en ningún momento tuvo contacto con el antibiótico.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que, en la clínica, un determinado antibiótico precisamente va a seleccionar las cepas resistentes a él, pues éstas son las supervivientes en el medio, que rápidamente se multiplican, es decir, el antibiótico no dirige la mutación, que es espontánea, sino que selecciona las cepas no sensibles a él.

Tipos

Las mutaciones no letales pueden traducirse en modificaciones de diferentes tipos:

1. Morfológicas en la alteración de algún carácter morfológico (cápsula, pared, fimbria, flagelos, etc.). La mutación en los genes que gobiernan la biosíntesis de estas estructuras comporta un importante cambio antigénico.
2. Bioquímicas, con cambios en el metabolismo celular. Así, la pérdida de la capacidad de sintetizar un metabolito esencial (mutantes auxotróficas), que se traduce por la necesidad del aporte nutritivo de dicha sustancia. Este hecho ha sido ampliamente usado para los experimentos genéticos (v. la regulación genética del operón de la lactosa en *E. coli*).
3. Patogénicas, con alteraciones de la virulencia bacteriana. En ciertos casos, una mutación puede traducirse por varios hechos: así, la mutación que altera la enzima que sintetiza el polisacárido capsular del *S. pneumoniae* se expresa no sólo por la aparición de cepas acapsuladas, sino por dar lugar a colonias R (en vez de las mucosas M normales), que son avirulentas, pues a la cápsula se debe la virulencia de los neumococos.
4. Mutantes letales condicionales. Se expresan en determinadas condiciones ambientales (permisivas) y no en otras. Las más características son las mutantes temperatura-sensibles (ts); éstas pueden crecer a bajas temperaturas (25 °C), pero no sobreviven a otras más altas (42 °C), a pesar de que las células originales crecían en ambas condiciones. Estas mutantes han sido muy utilizadas en los estudios de genética microbiana.
5. De la sensibilidad a los fagos y bacteriocinas.
6. De la sensibilidad a los antimicrobianos, de gran interés práctico y que se citarán en el capítulo 12.

Mecanismo de producción

La tasa de mutación puede ser ampliamente incrementada mediante diferentes métodos artificiales, como el uso de radiaciones ionizantes o ultravioletas, o la presencia de productos químicos: mostaza nitrogenada, acriflavina, mitomicina C, 5-bromouracilo (análogo de la timina), ácido nitroso, 2-aminopurina (análogo de la adenina), hidroxilamina, agentes alquilantes (etilmetanosulfonato, nitrosoguanidina), lauril-sulfato, etc. Todos estos agentes se llaman *mutágenos*.

Tabla 9-1. Tipos de mutaciones

Un par de bases: puntuales
Sustitución
Adición
Pérdida o deleción
Muchos pares de bases: fragmento del ADN cromosómico
Traslocación de secuencias de inserción o transposones

Las mutaciones puntuales que surgen por estos métodos pueden ser por *sustitución*, inserción o *adición*, o *pérdida* de un nucleótido. Se entiende por *deleción* la pérdida de más de un nucleótido, que nunca puede ser superior al 1 % del ADN, pues es incompatible con la vida bacteriana (tabla 9-1).

Bases moleculares

Sustitución

Los agentes mutagénicos pueden ocasionar cambios en una de las bases complementarias que forman las cadenas de ADN. En la figura 9-2 se observa cómo puede producirse un cambio de pares de bases A:T por G:C (: significa la unión por hidrogeniones del par de bases). Si este cambio es de una base púrica o pirimidínica por otra de la misma naturaleza, hablamos de *transición*, pero si una purina es reemplazada por una pirimidina o viceversa, llamamos al proceso *transversión*. Las transiciones más frecuentes pueden realizarse por:

1. Tautomerización de bases, en la que por cambios electrónicos se puede pasar de formas enólicas a cetónicas, de formas amino a imino, o viceversa. Así, la adenina en su estado normal se encuentra en forma amino, en la que se une con la timina, pero en su estado (raro) imino lo hace con la citosina (fig. 9-3).
2. Incorporación de bases análogas, como sucede con el 5-bromouracilo, que se incorpora a la molécula de ADN, en vez de hacerlo la timina; se comporta como la citosina y lleva a la sustitución del par A:T por el de G:C, en el siguiente paso.
3. Acción directa sobre las bases: el ácido nitroso, mediante una desaminación oxidativa, convierte la adenina en hipoxantina, que se une a la citosina (en vez de hacerlo a la timina) y produce el mismo tipo de sustitución; también puede desaminar la citosina a uracilo, cuya unión natural se realiza con la adenina y produce la transición inversa a la anterior. La hidroxilamina actuaría de la misma forma. Los

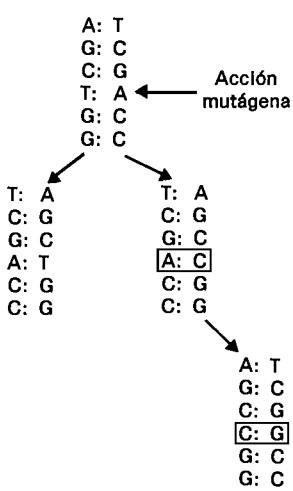


Fig. 9-2. Sustitución debida a un agente mutagénico, del par de bases T:A por G:C (A, adenina; T, timina; G, guanina; C, citosina).

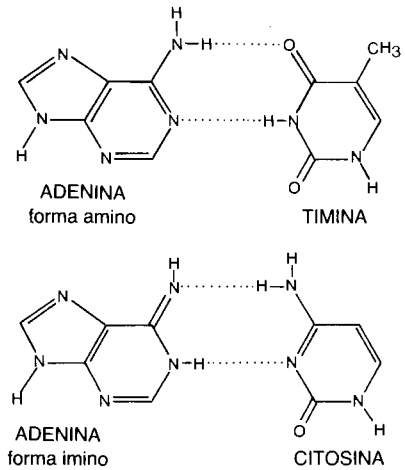


Fig. 9-3. Tautomerización de bases con mutación de A:T por A:C, en un primer paso.

agentes alquilantes transfieren grupos alquílicos a los anillos nitrogenados de las bases, causando diversos efectos (transición, transversión).

La sustitución de una base en el ADN cambia la transcripción y la traslación en la secuencia de polipéptidos en formación. Los resultados varían y puede aparecer una forma *degenerada* de triplete, cuando sigue codificando el mismo aminoácido, por ejemplo, los codones GCA y GCG codifican el aminoácido alanina. Otras veces aparece una secuencia de aminoácidos *alterada* o con sentido cambiado (cuando el cambio de base causa la inserción de un aminoácido diferente, con las consiguientes repercusiones funcionales en la proteína), o una mutación *sin sentido*, cuando, al no codificarse ningún aminoácido, la formación de la cadena polipeptídica queda terminada en ese punto. Así hay tres codones, que no tienen sentido: UAA (llamado ocre), UAG (ámbar) y UGA (ópalo).

Adición o deleción

Otras veces, lo que sucede es la *adición* o *deleción* de bases. Así, la acridina tiene la propiedad de intercalarse entre dos bases del ADN: Si lo hace en la cadena que sirve de plantilla o molde en la replicación, el boquete que queda en el sitio correspondiente de la cadena hija se cubrirá por la adición de una base nueva. Pero si lo efectúa en esta última cadena hija, la acridina ocupa el lugar de una base, que no es incorporada y se produce en la replicación siguiente una no incorporación de base en el sitio y, por ello, una deleción. La radiación ultravioleta tiene un efecto similar.

El efecto de estos dos tipos de mutaciones es un *cambio de la estructura* del ADN. Como el código genético se lee en bloques de tres bases, a partir de un punto fijo de comienzo, al añadir o quitar una base, se altera toda la secuencia de bases; en consecuencia cambian todos los tripletes y de ahí que se formen aminoácidos que no correspondían o se dejen de formar (fig. 9-4). Se denominan mutaciones por *frame shift* o cambios en la composición de tripletes.

Las mutaciones pueden corregirse, mediante la adición de bases al medio (cuando son por deleción) o bien, en el

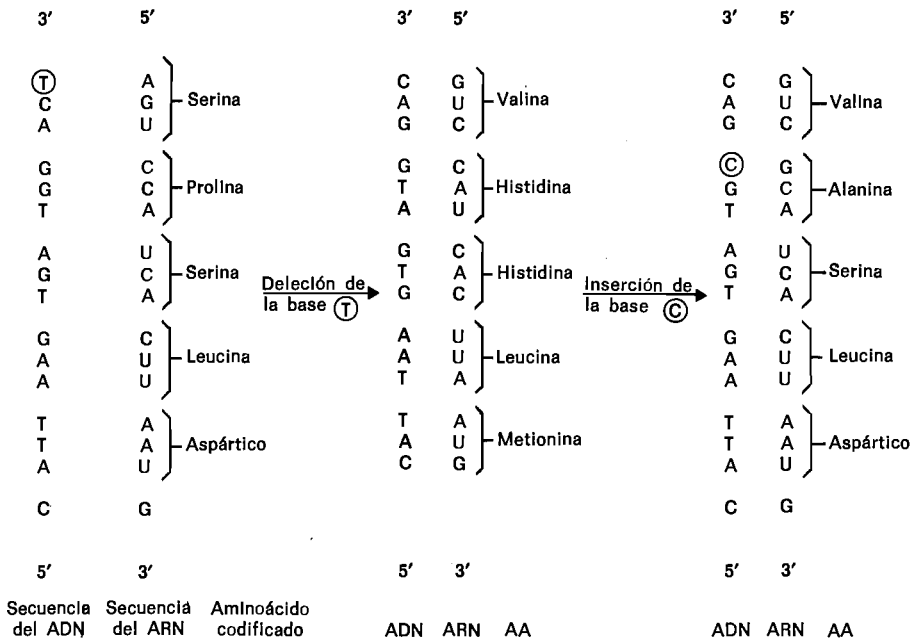


Fig. 9-4. Mutación por deleción de una base e inserción que la contrarresta, con el resultado final, en este caso hipotético, del cambio de sólo dos aminoácidos en la proteína formada (serina-prolina por valina-alanina).

caso de las mutaciones por adición, por una segunda mutación con deleción, si se restaura la cadena original. Estos mecanismos se han denominado mutaciones *intragénicas*, a diferencia de las que ocurren fuera del gen que contenía la mutación original y se llaman *extragénicas*. Así, la mayoría de los supresores extragénicos actúan mediante mutaciones en el ARNt.

Las radiaciones ultravioletas, absorbidas por el ADN bacteriano, pueden originar mutaciones, ya que forman dímeros de pirimidina, que, al ser incorporados con huecos en el proceso de replicación, dan lugar a sustituciones en los pares de bases, cuyo resultado ya hemos señalado. Estas mutaciones se ha comprobado que pueden ser «reparadas» durante la replicación del ADN, causándose por la exposición a la luz visible (foto-reactivación que rompe los dímeros de pirimidina y restaura la secuencia de bases). Las radiaciones ionizantes tienen mayor penetración que las ultravioletas y provocan roturas en cadenas del ADN con alta incidencia de mutaciones por pérdida de nucleótidos, en sitios múltiples.

Los mutágenos químicos actúan modificando las bases, con un error posterior en su apareamiento (ácido nitroso, alquilantes), provocando distorsiones en la estructura secundaria de la hélice del ADN (naranja de acridina) o como análogos de las bases (5-bromouracilo).

Otro mecanismo responsable de mutaciones espontáneas es la translocación de secuencias de inserción o de transposones, estudiados en el capítulo 4, que pueden movilizarse por escisión y reinserción consecutivas (translocación), a partir de otras regiones del mismo ADN o de otro plasmídico o fágico. Como codifican resistencias a los antibióticos o propiedades metabólicas, son de un gran interés.

TRANSFERENCIA GENETICA

Las bacterias pueden cambiar su mensaje genético no sólo por mutaciones, sino por la adquisición de ADN de otras bacterias o virus. Esa «transferencia» puede realizarse por cinco mecanismos (tabla 9-2).

1. Algunas especies bacterianas pueden aceptar fragmentos de ADN, liberados por lisis de otras cepas microbianas. Este proceso recibe el nombre de *transformación*.
2. El material genético de una bacteria puede circunstancialmente transferirse a otra mediante un bacteriófago, que lo vehicula. Es la *transducción*.
3. El ácido nucleico obtenido de un virus puede penetrar directamente sobre una bacteria huésped hecha competente. Es la *transfección*.
4. Una bacteria puede adquirir ADN de un profago que la infecte y permanecer en estado lisogénico. Esta adquisición se llama *conversión*.
5. El ADN de una bacteria puede pasar a otra por contacto: *conjugación*.

Estas cinco posibilidades de transferencia ocurren rara vez, pero pueden explicar hechos tan importantes como la adquisición de un nuevo poder patógeno, la resistencia a los antimicrobianos e incluso fenómenos de evolución bacteriana. El ADN transferido (exogenote) puede quedar libre en el citoplasma bacteriano o incorporarse al ADN cromosómi-

Tabla 9-2. Tipos de transferencia genética

1. Transformación
2. Transducción
Generalizada
Completa
Abortiva
Restringida
3. Transfección
4. Conversión
5. Conjugación
De F^+ a F^-
De Hfr a F^-
De F′ a F^- (sexducción)

co (endogenote), en un proceso de *recombinación* o *integración*. Esto requiere que las secuencias de nucleótidos sean similares (regiones homólogas) y tenga lugar su rotura con posterior unión de las piezas de los dos ADN (*crossing-over*). Así, ambos ADN dan lugar a un merozigote o zigote parcial.

En las células procariotas, la unión del pequeño ADN circular (exogenote) de un profago o un plásmido tiene lugar por un único *crossing-over* (figs. 8-7 y 9-5). Pero si se trata de un largo ADN lineal, este proceso haría imposible la viabilidad de la célula. Por ello, lo que ocurre es un doble *crossing-over*, con lo que la longitud del ADN resultante es igual al del cromosoma original (fig. 9-6). La integración requiere un número impar de *crossing-over* y la recombinación de pares de ellos. La distancia entre dos *crossing-over* es variable y también pueden producirse, si el ADN adquirido es suficientemente largo, múltiples *crossing-over*. Como este ADN puede contener de 10 a 100 genes, existe la posibilidad de insertar varios genes juntos en el cromosoma. La frecuencia con la que dos genes juntos son introducidos y en las generaciones hijas son reflejados fenotípicamente ha permitido la realización de los *mapas genéticos*, como el de *E. coli* (fig. 9-14).

El mecanismo íntimo de la unión entre los ADN recombinantes se explicó en principio por la rotura de ambas cadenas y posterior unión de los brazos resultantes (fig. 9-7). También la teoría de la elección de copia explicaría la recombinación: una enzima replicadora copia cada una de las cadenas o hebras del ADN, y la copia resultante es una mezcla de las copias originarias. Hoy, la mayoría de las teorías combinan las ideas de las dos anteriores; prototipo de ellas es la teoría propuesta por Whitehouse.

Transformación

La mayoría de las especies bacterianas son incapaces de tomar ADN exógeno e integrarlo en el cromosoma propio, debido a unas nucleasas (endonucleasas de restricción) que lo destruyen. Sin embargo, ciertas bacterias de los géneros *Streptococcus (S. pneumoniae), Haemophilus, Escherichia, Neisseria, Bacillus, Proteus, Pseudomonas*, etc. sí son capaces de hacerlo, siempre y cuando se trate de un ADN «homólogo» al propio.

Este hecho, que fue descrito por primera vez por Griffith en 1928 y lleva su nombre, se pudo demostrar primero *in vivo* (tabla 9-3). La virulencia de las cepas S de neumococos depende de la presencia de la cápsula, codificada por el ADN bacteriano. La inoculación de neumococos vivos no capsulados (colonias R rugosas), junto a neumococos muertos capsulados (colonias S lisas), determina la muerte del animal, cosa que no sucede inyectando ambos por separado; en el animal muerto se aíslan neumococos vivos capsulados. Posteriormente se demostró *in vitro*, transfiriendo a neumococos vivos avirulentos extractos purificados de ADN, procedentes del cromosoma de bacterias virulentas. Se comprueba, así, que el ADN marcado (que puede contener de 10 a 50 genes) se integra en el cromosoma de la bacteria (que en ese momento se llama *competente*).

El mecanismo íntimo de este proceso no es bien conocido. Se sabe que depende de ciertas proteínas (factores de competencia), de que la bacteria se encuentre en la fase logarítmica de crecimiento y de cierta depleción de la actividad nucleasa de la bacteria. El ADN se fija en la pared celu-

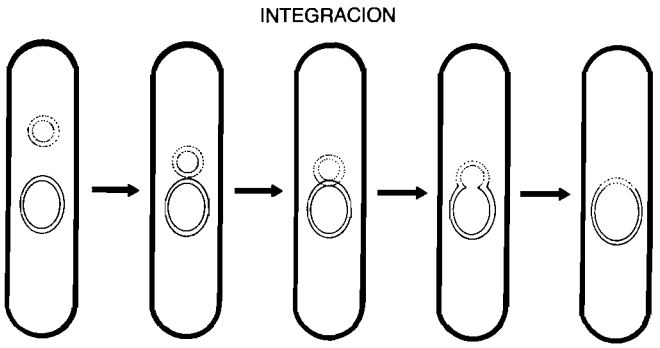


Fig. 9-5. Esquema de la inserción de un ADN circular (...) en otro microbiano (–) por un simple entrecruzamiento (*crossing-over*).

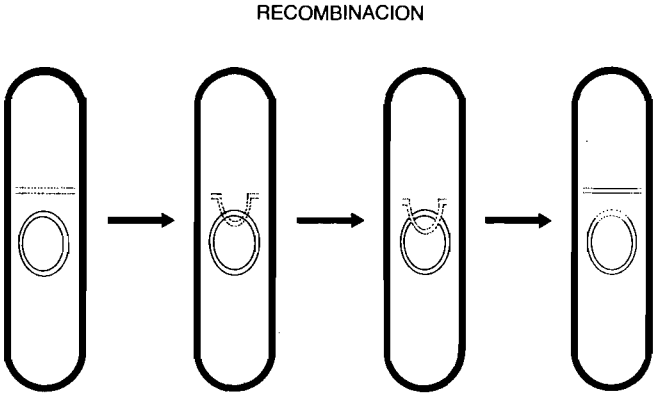


Fig. 9-6. Esquema de inserción de un ADN lineal por un doble entrecruzamiento.

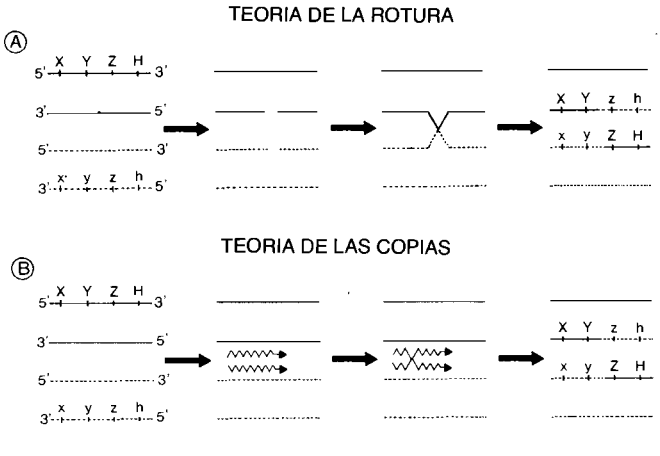


Fig. 9-7. Esquema del mecanismo del intercambio genético entre cromosomas homólogos.

Tabla 9-3. Esquema del fenómeno de transformación de Griffith

Inoculación intraperitoneal, de neumococos de cepas	Ratón blanco
S III vivos	Septicemia mortal
S III muertos	Animal vivo
R vivos	Animal vivo
R vivos + S III muertos	Septicemia mortal

lar y es dividido en pequeños fragmentos por vía enzimática, atravesaría unos poros de la pared celular y sería transportado a través de la membrana citoplásmica. Una vez en el interior, se separan las dos cadenas, de la que sólo una se integraría en el cromosoma, en lugar de un segmento homólogo del ADN de la bacteria receptora.

Transducción

La transducción es un fenómeno por el que se transfiere un fragmento de ADN de una bacteria a otra, por intermedio de un bacteriófago, lítico o atemperado, cuyo ácido nucleico es un ADN bicatenario. Se ha observado en enterobacterias, *Bacillus, Staphylococcus, Pseudomonas*, etc. Existen dos tipos de transducción, la generalizada y la restringida o especializada.

Transducción generalizada

Al ingresar el fago en la bacteria susceptible, induce una nucleasa que fragmenta el cromosoma bacteriano, a la vez que se forma el ADN vírico y las proteínas de envoltura. Estas rodean el ADN vírico, pero algunas (alrededor de 1 por cada millón) incluyen ADN fragmentado bacteriano y tras la lisis celular portan el mensaje genético (30-150 genes) de la bacteria infectada. Al infectarse una nueva bacteria, el fago no desarrolla un ciclo lítico (no lleva para ello información), sino que el ADN se incorpora el de la célula huésped (fig. 9-8). El fenómeno ha sido estudiado con precisión en el fago P22 de *Salmonella typhimurium*.

Pero puede que exista, en vez de una transducción completa (el ADN recombinante se transmite a toda la descendencia), una transducción *abortiva*, que es mucho más frecuente. En ella, el fragmento transferido no se integra en el cromosoma y no se replica con él; de ahí que sólo pase a una de las células hijas y así sucesivamente, en cada división celular. Este mecanismo se comprobó por vez primera en experimentos con genes que determinan la movilidad de *Salmonella* y ha sido utilizado como prueba de complementación genética.

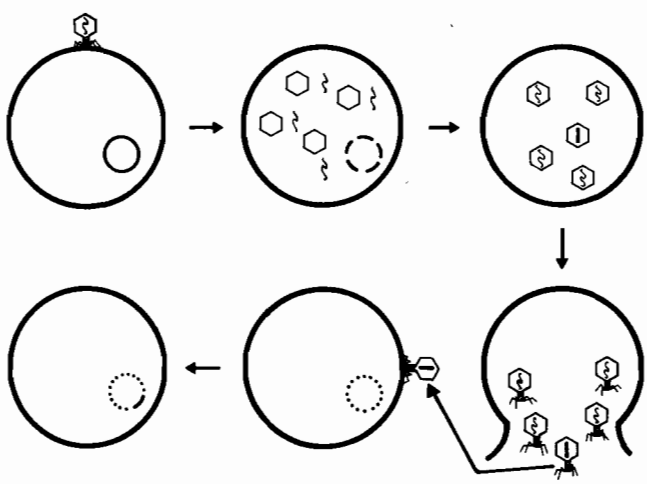


Fig. 9-8. Esquema de transducción generalizada completa.

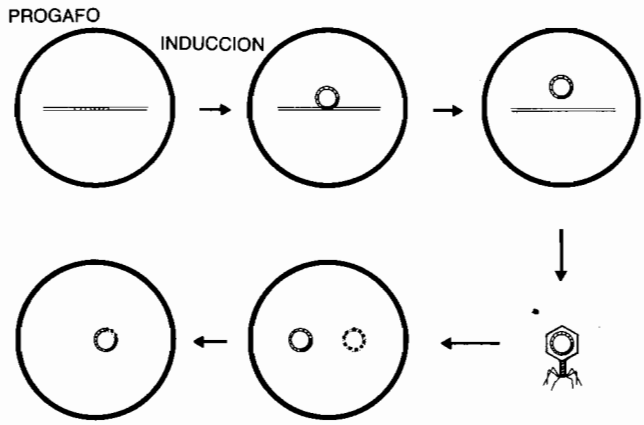


Fig. 9-9. Esquema de transducción restringida.

Por último, puede que el bacteriófago transfiera ADN extracromosómico de plásmidos existentes en el citoplasma bacteriano.

Transducción restringida

La invasión de una bacteria por un fago atemperado da lugar a una bacteria lisogénica. Cuando se induce y el profago se transfiere en fago vegetativo, puede arrastrar un pequeño fragmento del ADN bacteriano vecino y transmitirlo a una nueva bacteria. Es la transducción restringida (fig. 9-9). El fenómeno ha sido estudiado con precisión en el fago λ de *E. coli*. Cuando este profago infecta la bacteria, se integra entre los marcadores de utilización de la galactosa y la síntesis de la biotina del mapa cromosómico. Cuando la bacteria lisogenizada se expone a la inducción (p. ej., a factores químicos o radiaciones ultravioletas), el profago integrado se separa del cromosoma y lleva con él los marcadores de la biotina o de la galactosa (fig. 8-7): en este caso, las partículas víricas defectivas se conocen como λ-dgal [λ-*defective galactose*] y λ-dbio. Cuando estos virus infectan otros *E. coli*, les transmiten estas partículas defectivas que conllevan, junto al ADN fágico, ADN de la bacteria anterior que codifica la biotina o la galactosa. La partícula vírica es defectiva, porque no lleva toda la información genética vírica y nunca podrá dar lugar a un ciclo lítico.

Transfección

Es la infección de una célula huésped con ácido nucleico obtenido previamente de un virus. El resultado de este proceso es la producción de virus completos en el interior de la bacteria huésped, lo que lleva a su lisis. Para que se produzca la transfección, palabra derivada de transformación e infección, se requiere que la célula huésped se encuentre en un estado fisiológico especial, que se denomina competencia. A diferencia de la infección o ciclo lítico normal del bacteriófago, es menor la eficiencia del proceso (menor formación de placas), mayor el período de latencia y diferente la sensibilidad a las nucleasas, enzimas proteolíticas y anticuerpos antivíricos.

Existen dos sistemas experimentales de transfección: uno basado en la puesta en competencia de las células recepto-

ras (por su tratamiento por iones calcio o a partir de esferoplastos) y otro basado en la infección adicional por un fago intacto.

Entre las aplicaciones de la transfección se encuentra el rescate de marcadores (empleado en la genética de los bacteriófagos), el estudio de los mecanismos restrictivos enzimáticos de ciertas bacterias (*B. subtilis*), realización de mapas genéticos, etc. Pero la aplicación más importante se ha efectuado sin duda en la ingeniería genética, que citamos al final del capítulo.

Conversión

En la conversión lisogénica no existe transferencia genética de una bacteria a otra, sino que se trata de la integración del ADN fágico en el cromosoma bacteriano (profago). Este nuevo ADN codifica una serie de caracteres nuevos que pueden tener gran importancia. Así, el bacilo diftérico no produce la toxina proteica responsable del cuadro clínico, más que cuando está lisogenizado por el profago β.

Es de destacar la diferencia entre la conversión fágica y la transducción restringida. En ésta, el virus desempeña un papel de vector de caracteres recogidos de la bacteria previamente infectada; en la conversión, el genoma fágico es el que confiere los caracteres y desempeña el papel determinante; además, puede dar lugar a un ciclo lítico con la producción y liberación de nuevos fagos.

Conjugación

Se entiende por conjugación la transferencia de material genético cromosómico o no, de una bacteria donante a otra receptora, por contacto directo de ambas. La capacidad de actuar como donante en este proceso se debe a la presencia de un plásmido transmisible, que contiene la información para la conjugación y para transferir el ADN a la bacteria receptora. Este plásmido se conoce con el nombre de *factor de transferencia* o *factor sexual* de 63 megadaltons. Las células que lo contienen o donantes se llaman convencionalmente F^+ o bacterias masculinas y las que carecen de él o receptoras, F^- o bacterias femeninas. El resultado observable de la conjugación entre dos tipos de bacterias es la aparición de un tercer tipo de ellas, con caracteres fenotípicos de las dos cepas progenitoras. Se denominan recombinantes genéticos.

La transferencia por conjugación requiere un contacto directo entre la célula donante y la receptora. El factor de transferencia contiene información genética, que codifica la producción, en la superficie de la bacteria masculina, de *pili sexuales*, estructuras microtubulares, compuestas por una proteína difosforilada monoglicosada de peso molecular 18.000. Para unos, el material genético pasaría de una célula a otra a través del *pilus* sexual hueco (de 8 nm de diámetro); para otros los *pili* sexuales sólo representarían un mecanismo de sujeción o anclaje, que mantendría las dos bacterias juntas, posteriormente se retraerían los *pili* y se establecería un puente de unión entre las membranas citoplásmicas por el que pasaría el ADN (fig. 9-10).

El contacto entre las bacterias comporta la puesta en marcha de una replicación del plásmido (*replicación transferencial*), de tal manera que la célula receptora recibe una copia de él, tras la rotura por un punto específico. De esa manera se transfiere a partir del final 5′ una cadena con su copia, y queda la otra cadena con su nueva copia en el citoplasma bacteriano (fig. 4-12).

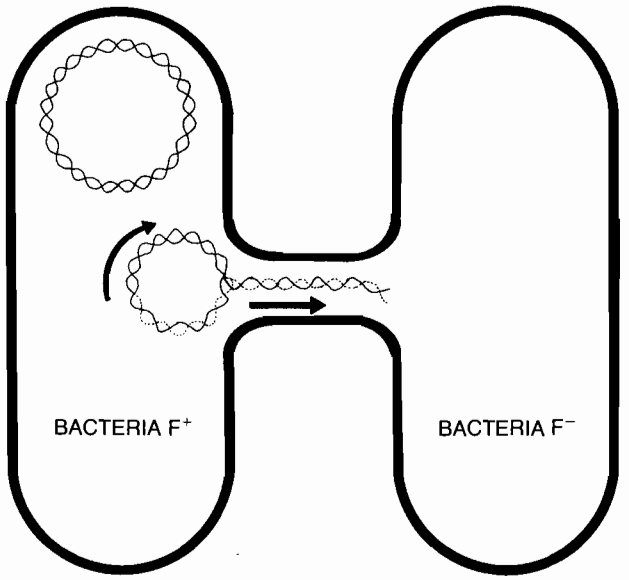


Fig. 9-10. Transferencia del factor sexual F de una bacteria donante, masculina o F^+ a otra receptora, hembra o F^-. En el factor F se representa con línea continua la hebra original de ADN y en punteado la nueva cadena complementaria recién sintetizada.

El factor F es un ADN extracromosómico bicatenario (replicón) y circular, cuya longitud genética es alrededor del 2 % de la del cromosoma; lleva información genética que le permite su replicación y transferencia, la formación de *pili* y quizás otros marcadores. En la conjugación de una bacteria F^+ con una F^-, el factor F libre en el citoplasma de la primera de ellas pasa a la segunda tras su replicación y la convierte en F^+. De esa forma, en una población bacteriana, puede rápidamente transferirse el factor a gran parte de aquélla; sería una «epidemia» de plásmidos o «herencia infecciosa».

Pero existe otro tipo de bacterias donantes de ADN. En ellas, el factor F^+ no se encuentra libre en el citoplasma, sino que se integra en el cromosoma, tras su movilización. Estas células, que pueden transferir genes cromosómicos a bacterias F^- con gran frecuencia [10^{-2} a 10^{-1}], se denominan Hfr (*high frequency recombination*). La integración puede producirse en diversos puntos del cromosoma, entre regiones genéticamente homólogas de ambos ADN o en secuencias de inserción. El factor F se replica como parte del cromosoma, sin perder su capacidad de producir *pili* sexuales. Durante la conjugación con una bacteria F^- (fig. 9-11), una réplica del ADN cromosómico pasa a la célula receptora. La rotura tiene lugar siempre por el factor F, y comienza el paso de material genético, gen por gen, por el lugar opuesto a él, que es el final 5′ del ADN. Como las interrupciones espontáneas son muy frecuentes, el paso entero de toda la réplica, que dura unos 20 minutos, es sumamente raro, por lo que excepcionalmente se transmite el factor F, el último, y por ello la bacteria receptora continúa como F^- o femenina.

Por lo tanto, en la conjugación entre una bacteria F^+ y una F^-, las bacterias femeninas se convierten en masculinas, pero es muy rara o nula la existencia de recombinantes. En la transferencia entre Hfr y F^-, hay gran número de recom-

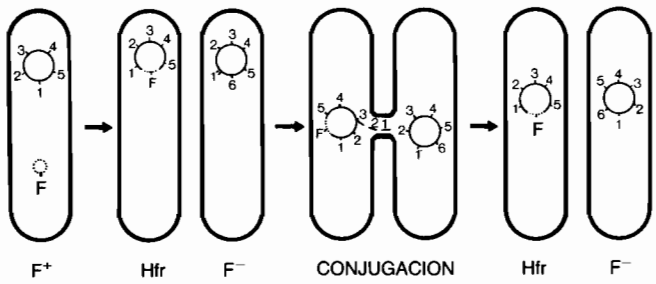


Fig. 9-11. Conjugación entre una bacteria Hfr, que posee el factor de transferencia F y cinco teóricos genes (1 a 5), con otra que posee un gen 1′ alterado con respecto al 1. La conjugación produce una nueva bacteria recombinante, que adquiere el factor 1, pero no el de transmisión, por lo que continúa como F⁻.

binantes, pero es muy difícil que las bacterias receptoras se conviertan en masculinas.

Mediante experimentos seriados, interrumpiendo la conjugación en tiempos escalonados, se ha podido ordenar los genes de las cepas Hfr y realizar así el mapa cromosómico de la bacteria. Ejemplo de ello es el mapa esquematizado y no completo de *E. coli*, en el que se conocen más de 650 genes de los 3.000 que debe poseer en sus 1.000 pares de nucleótidos. Este hecho ha servido también para comprobar que el cromosoma es circular; se encuentra dividido en 90 partes, pues 90 son los minutos que tarda en pasar todo este material genético (fig. 9-14).

Existe un tercer tipo de conjugación entre bacterias. En algunas cepas Hfr, el factor sexual puede separarse de nuevo del ADN cromosómico y llevarse consigo uno o más de sus genes. Este factor F, que se ha llevado una porción del cromosoma, recibe el nombre de factor F′ *(F prima)*, cuyo prototipo mejor conocido es el factor *F-lac*, que es portador de los genes del operón *lac* de *Escherichia coli*, que permite la fermentación de la lactosa. Este factor F′ extracromosómico y circular puede transferirse a otras células, convirtiéndolas en fermentadoras de la lactosa si antes no lo eran.

Si una porción del factor F permanece en el cromosoma, crea un locus llamado *sfa* (factor de afinidad sexual), el cual debido a su homología con el factor F será el sitio preferido para posteriores integraciones del factor F′. La conjugación entre bacterias F′ y F⁻ es de moderada frecuencia de recombinación y se llama sexducción.

Cuando un factor *F-lac* es transferido a una bacteria *E. coli*, que en su cromosoma ya posee genes *lac*, la célula se convierte en diploide para los factores *lac*. Este hecho es el que ha permitido el conocimiento del mecanismo de control de las enzimas inducibles y, últimamente, la integración de secuencias de inserción.

INGENIERIA GENETICA MICROBIANA

En 1972, se descubrió el modo de combinar genes de diferentes organismos, con independencia del puesto que ocuparan en la escala biológica. La creación de tales moléculas híbridas *(quimeras)* marcó un hito en la biología molecular, porque se rompía por vez primera la imposibilidad existente hasta entonces del intercambio genético entre especies no relacionadas.

La existencia de fenómenos de transferencia genética «espontánea» era previamente conocida entre especies próximas y se ha estudiado en este capítulo: transferencia genética del ADN cromosómico entre dos bacterias, transferencia de plásmidos, fenómenos de lisogenia y transducción por bacteriófagos, etc. El paso siguiente era obtener artificialmente dichos intercambios entre ADN de dos seres vivos cualesquiera. Para ello es necesaria la utilización de tres elementos:

1. Una bacteria, en la que se pueda introducir fácilmente material genético en forma de plásmidos o a través de bacteriófagos.
2. Plásmidos.
3. El fragmento de ADN de animales, plantas, bacterias o virus, que vehicule la información que se desea obtener: un producto metabólico, hormonas, antígenos, etc.

a) La bacteria con la que más se ha trabajado ha sido *E. coli*, de la que se ha afirmado que «sabemos más de su bioquímica, fisiología y genética que de cualquier otro ser vivo, incluido el hombre». La cepa K-12 es la descendiente de una cepa intestinal de un paciente, obtenida en 1922 y alterada genéticamente en los laboratorios, de tal forma que es incapaz de colonizar el intestino. En 1976, se obtuvo una nueva cepa que se denomina X 1776, en honor del bicentenario de Estados Unidos, que, además de no tener poder patógeno alguno, se lisa inmediatamente por la luz solar.

b) Los plásmidos, separados por centrifugación del ADN cromosómico pueden escindirse, es decir, «romper» la doble cadena, mediante unos fermentos denominados *endonucleasas de restricción* (fig. 9-12) de las que se han descrito diversos tipos.

c) El ADN no bacteriano es también escindido convenientemente, para que los fragmentos posean la información genética deseada.

En el paso siguiente, los anillos abiertos (fig. 9-13) se mezclan con los genes también escindidos del otro ser vivo. En la solución se añade otra enzima, la ADN-ligasa que enlaza el gen extraño al círculo abierto del plásmido de *E. coli*. El resultado de esta unión se denomina *quimera*, pues, al igual que en la mitología que tenía cabeza de león, cuerpo

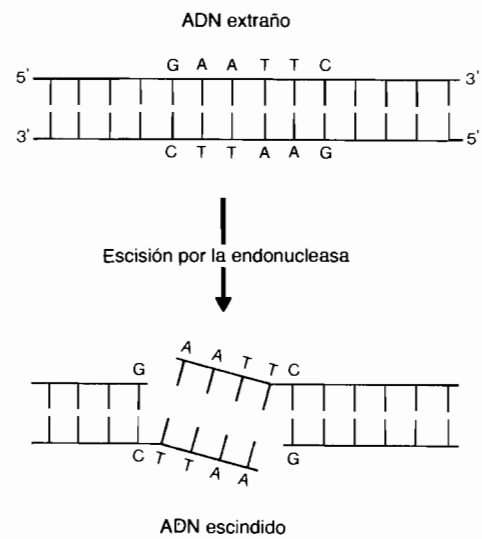


Fig. 9-12. Mecanismo de acción de las endonucleasas.

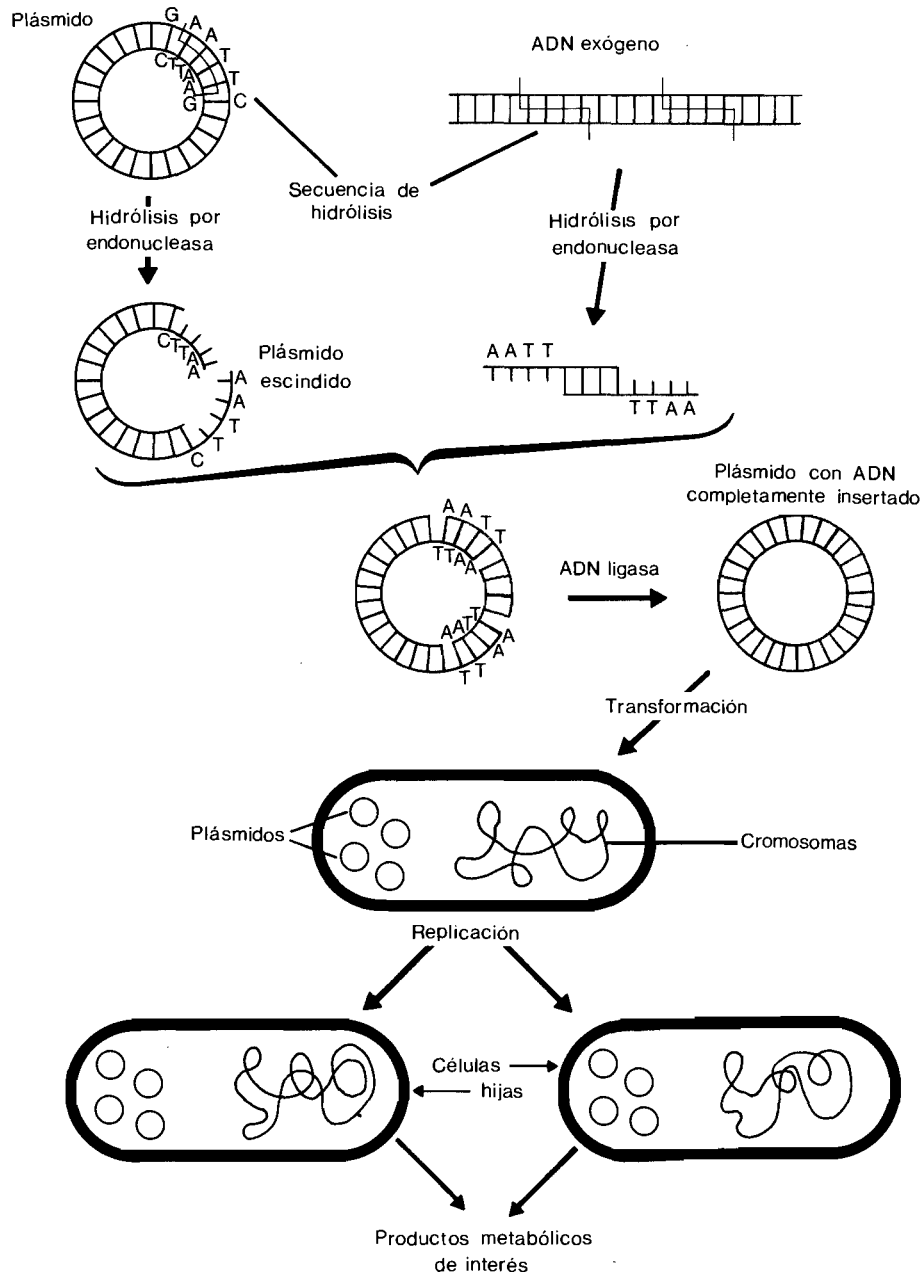


Fig. 9-13. Inserción de ADN procedente de una célula viva en un plásmido de *E. coli*.

de cabra y cola de serpiente, ésta tiene elementos de «animales» diferentes.

Las quimeras se sitúan en una solución fría de cloruro cálcico, con el *E. coli* elegido. Cuando la solución se calienta bruscamente, las membranas de la bacteria se hacen permeables, lo que permite a los nuevos plásmidos quimera entrar en ellas y permanecer en el citoplasma. Cuando *E. coli* se reproduce, crea copias de su ADN y del extracromosómico de la quimera, por lo que se producen las proteínas codificadas por ambos ADN. En pocas horas se pueden obtener millones de bacterias productoras de la sustancia deseada.

Otra aplicación de la tecnología del ADN recombinante son los experimentos sobre amplificación genética. El número de plásmidos, o copias, por cada bacteria es pequeño, ya que se encuentran sometidos a un control restrictivo de su replicación. Pero cuando ese plásmido se transfiere a otra especie bacteriana, genéticamente afín, puede perder ese control. Así, el plásmido R_{100} de *E. coli*, único en esta bacteria, cuando se transfiere a *Proteus mirabilis*, aumenta a 50 el número de copias; este número puede aún hacerse superior, si su proceso de replicación continúa en la fase en que el cromosoma ya no se divide. Se obtienen así células con 200 copias de plásmidos, en las que el ADN extracromosómico supera el cromosómico. Si el plásmido codifica la producción de un determinado producto, su síntesis aumenta en 200 a 300 veces. Así, el citado plásmido R_{100} permite la obtención en gran cantidad de cloranfenicol-acetiltransferasa y β-lactamasa, enzimas de resistencia al cloranfenicol y a las penicilinas. El plásmido Col E_1 de *E. coli* puede llegar también a producir unas 3.000 copias por célula.

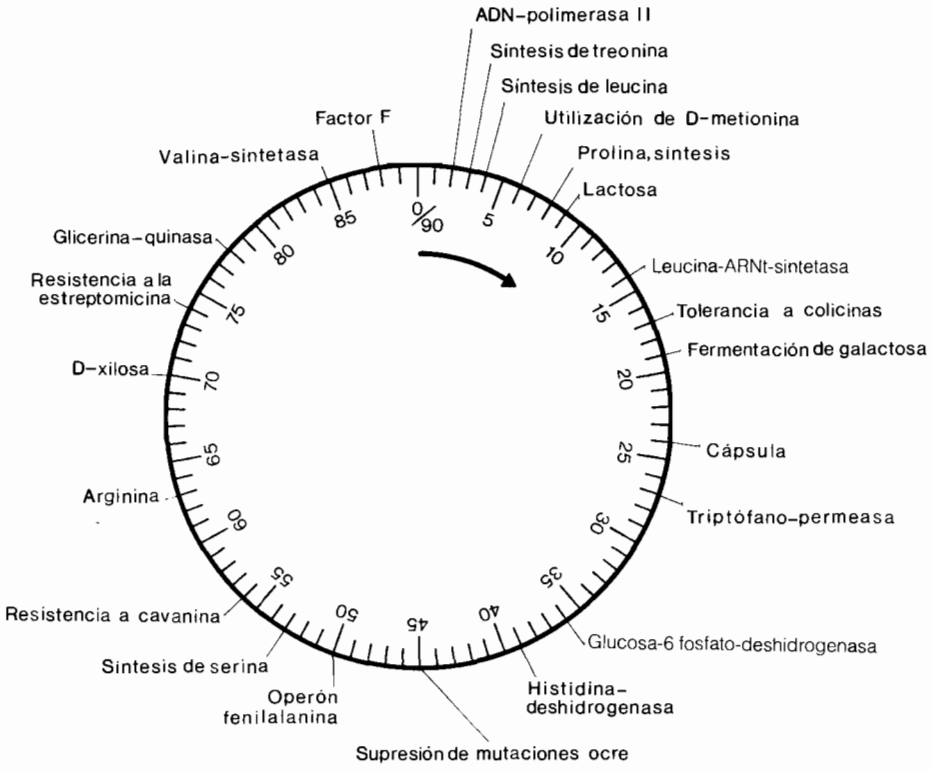


Fig. 9-14. Mapa genético de *E. coli.*

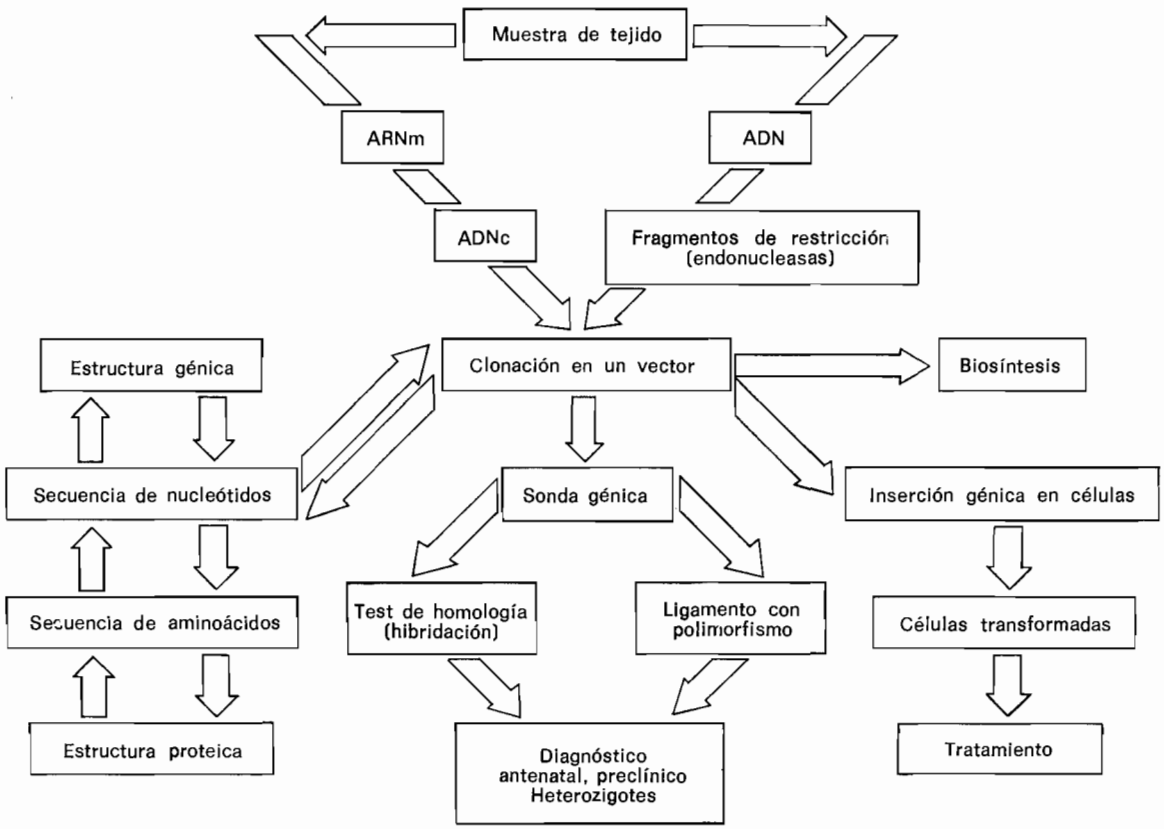


Fig. 9-15. Posibilidades y aplicaciones del ADN recombinante (Emery, 1983).

Otra forma de amplificación genética se realiza mediante fagos transductores, del tipo del fago λ y Φ 80 de *E. coli*. Estos fagos, al arrastrar un pequeño fragmento (1-2 %) del cromosoma bacteriano, pueden replicarse al infectar una nueva bacteria, amplificando 50 ó más veces el material genético que interesa porque codifica un producto determinado.

Los estudios de ingeniería genética, que han sido muy debatidos desde el punto de vista científico y ético hasta la conferencia de Wye, Kent (Inglaterra), han abierto un enorme campo de posibilidades en la biología y en la medicina (fig. 9-15).

En 1978 se sintetizaron los dos genes que codifican las dos cadenas de aminoácidos de la molécula de insulina, integrándose en el plásmido pMB9 de *E. coli*, convirtiendo esta bacteria en productora de insulina humana. Posteriormente se ha conseguido la inserción de los genes productores de somatostatina, factores VIII y IX de la coagulación, el activador del plasminógeno, el interferón, interleucinas, inmunoglobulinas específicas, endorfinas, etc.

La introducción de ácidos nucleicos víricos en plásmidos de *E. coli* ha abierto también el camino a vacunas antivíricas. Así, la vacuna frente al antígeno superficial del virus de la hepatitis B y otras muchas en preparación, como las de la gripe y rabia. De la misma forma se preparan vacunas contra el cólera, sífilis, gonococia, lepra, *E. coli* enteropatógeno, paludismo, etc.

Las técnicas del ADN recombinante también se han utilizado para la investigación de estructuras génicas (mapas), la genética de poblaciones, el diagnóstico prenatal (mediante el estudio de anomalías en el ADN fetal, en hemofilia, talasemia, hemoglobinopatías, etc.), el diagnóstico precoz de enfermedades genéticas y la detección de portadores heterozigotes. Asimismo se usan para el diagnóstico de los linfomas.

El tratamiento de las enfermedades genéticas, realizando la inserción de genes clonados o supresores, mediante diversos mecanismos, en las células humanas (transformación celular), ha abierto un campo nuevo en muchas de aquellas enfermedades.

Por último, las aplicaciones que en otras ramas de la ciencia pueda tener esta nueva especialidad e indirectamente sobre el hombre son incalculables: la producción masiva de bacterias capaces de fijar el nitrógeno atmosférico, la fabricación industrial de aminoácidos y de *Pseudomonas* capaces de destruir las cadenas de hidrocarburos, y sobre todo la actuación a nivel de los incontables microorganismos que fabrican antibióticos y productos de interés industrial (solventes, productos alimenticios, bebidas, insecticidas, etc.), el trasplante de genes y el estudio de la regulación del desarrollo de embriones, etc. son sólo muestras de la importancia de la ingeniería genética.

BIBLIOGRAFIA

Boyd, R. F., y Marr, J. J.: Medical Microbiology. Little, Brown, Boston, 1980.

Davis, B. D., y Dulbecco, R.: Bacterial and Molecular Genetics. En David, B. D.; Dulbecco, R., y cols. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed. 167-348. Harper and Row, Hagerstown, 1980.

Drake, J. W.: The Molecular Basis of Mutation. Holden-Day, San Francisco, 1970.

Emery, A., y Rimon, D.: Principles and practice of medical genetics. Churchill Livingstone. Philadelphia, 1983.

Engleberg, N. C., y Einsestein, B.: The impact of new cloning techniques in the diagnosis and treatment of infectious diseases. N. Engl. J. Med., 311, 892-894, 1984.

Fraser, A. G.: Bacterial Genetics, En Duguid, J. P.; Marmion, B. P., y Swain, R. M. A. (dirs.): Medical Microbiology, 13.ª ed. 86-109. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1978.

Glover, M.: Genetic engineering-cloning DNA. Chapman Hall, London, 1980.

Gots, J. S., y Benson, C. E.: Biochemical genetics of Bacteria. Ann. Rev. Biochem., 8, 77, 1974.

Gunsalus, I. C., y Stanier, R. J.: The bacteria, vol. V (Heredity). Academic Press, New York, 1964.

Hayes, W.: Genetics of Bacteria and Their Viruses, 2.ª ed. Blackwell, Oxford, 1968.

Jiménez Sánchez, A., y Guerrero, R.: Genética molecular bacteriana. Reverté, Barcelona, 1982.

Old, R. W., y Primrose, S. B.: Principles of gene manipulation: an introduction to genetic engineering, 2.ª ed. Univ. California Press, Berkeley, 1982.

Shapiro, J. M.: Mobile genetic elements. Academic Press, New York, 1983.

Strickberger, M. W.: Genetica. Omega, Barcelona, 1978.

Watson, J. D.: Biología molecular del gen, 3.ª ed. Fondo Educativo Interamericano, Bogotá, 1978.

Weatheralt. D. J.: The new genetics and clinical medicine. Nuffield Prov. Hospitals Trust, London, 1981.

Williamson, R.: Genetic engineering. Academic Press, New York, 1983.

Yawetz, E.; Melnick, J. L., y Andelberg, E. A.: Review of Medical Microbiology, 14.ª ed. Lange Medical Pub., Los Altos (California), 1980.

Capítulo 10

Sistemática bacteriana

José Angel García-Rodríguez

El mundo viviente está constituido por multitud de seres que se relacionan entre sí por un gran número de interacciones ecológicas, en muchas ocasiones de gran complejidad. Su amplitud es tal que el hombre es incapaz de abarcarlo y comprenderlo en su conjunto, de manera especial en la actualidad, debido a las aportaciones que hacen las distintas ramas de las ciencias biológicas.

El desarrollo de la inquietud científica en el hombre condicionó, para poder entender la naturaleza viva, los numerosos intentos de clasificar las unidades que la componen, denominarlas correctamente y, más tarde con la aceptación de la evolución darwiniana, buscar sus relaciones. Sin duda, fue Linneo en el siglo XVIII el primer investigador que impulsó la clasificación y nomenclatura binaria y plasmó en su *Sistema Naturae* (1758). Este sistema no pudo aplicarse a las bacterias hasta comienzos de este siglo, cuando se dispuso de técnicas adecuadas para observar sus características anatomofisiológicas. Los logros más importantes se han obtenido en las dos últimas décadas.

La *Sistemática* bacteriana estudia los diversos organismos y sus relaciones e incluye:

1. La *clasificación*, que es la ordenación de los organismos en grupos taxonómicos (familia, género, especie, etc.).
2. La *taxonomía*, que, a pesar de considerarse como sinónimo de clasificación, en realidad es «la teoría» de la clasificación. Algunos autores incluyen en ella clasificación, nomenclatura e identificación. No se trata de una ciencia estática, sino que goza de un gran dinamismo que está en relación con los avances que van apareciendo en los procedimientos empleados para su estudio. Por esta razón, clasificaciones y denominaciones válidas en la actualidad pueden quedar desfasadas e incorrectas a la luz de nuevas aportaciones científicas.
3. La *identificación* permite encuadrar un organismo determinado en un grupo taxonómico particular de una clasificación previamente establecida. Por ejemplo, un coco grampositivo, que se agrupa en racimos y, además, es catalasa positivo, fermentador de la glucosa y productor de coagulasa, se identifica como *Staphylococcus aureus*, dado que estas propiedades corresponden a una especie previamente descrita con este nombre y características.
4. La *nomenclatura* trata de asignar a los organismos vivos un nombre científico, correcto y admitido internacionalmente. Es un sistema por el que se define un organismo sin tener que enumerar sus propiedades y mediante el cual se pueden comunicar entre sí los científicos para quienes una determinada denominación tiene el mismo significado. Así, la denominación de *Mycobacterium tuberculosis* debe ser idéntica para cualquier estudioso de la microbiología.
5. La *filogenia* estudia la historia evolutiva de los organismos.

CLASIFICACION

La instauración de una clasificación es el primer paso taxonómico que permite asignar a los grupos de microorganismos que la componen una denominación adecuada, facilita su reconocimiento por otras personas y establece una correcta identificación.

Categorías taxonómicas y rango

Dada la gran diversidad de los seres vivos en general y de las bacterias en particular es necesario para su clasificación seguir un esquema taxonómico de complejidad creciente. Este esquema consta de grupos taxonómicos principales denominados taxa, en singular taxón, que siguen una jerarquía previamente establecida, como se observa en la tabla 10-1.

Tabla 10-1. Categorías taxonómicas

Reino
División
Clase *(classis)**
Subclase *(subclassis)***
Orden *(ordo)*
Suborden *(subordo)*
Familia *(familia)*
Subfamilia *(subfamilia)*
Tribu *(tribus)*
Subtribu *(subtribus)*
Género *(genus)*
Subgénero *(subgenus)*
Especie *(species)*

*En paréntesis en latín.

**Las categorías taxonómicas de esta columna pueden existir o no dentro de un determinado taxón, y su aplicación depende con frecuencia de los diferentes autores, así como de la complejidad del taxón jerárquicamente superior.

Tabla 10-2. Clasificación taxonómica según Bergey

Reino: *Procaryotae*
División: *Gracilicutes*
Clase: *Scotobacteria*
Orden: *Spirochaetales*
Familia: *Leptospiraceae*
Género: *Leptospira*
Especie: *Leptospira interrogans*

Los nombres de especie, género, familia, etc. son las «categorías taxonómicas» y la posición relativa en la jerarquía se denomina «rango taxonómico». Con esta jerarquización se pretende expresar el hecho de que, por ejemplo, las especies de un género sean muy similares entre sí y mucho más que con las especies de otros géneros. Sucede de forma parecida con los géneros de una familia, las familias de un orden y, así, sucesivamente. De acuerdo con este esquema y con objeto de conocer las categorías y rangos taxonómicos y entender sus relaciones entre sí, se expone, como ejemplo, un modelo seguido para la clasificación y que aparece en el Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática (1984) (tabla 10-2).

Aparte los caracteres recogidos en este esquemático ejemplo, el orden *Spirochaetales* cuenta con otra familia y más géneros y especies.

La categoría básica en la clasificación es la especie, integrada por un grupo de individuos que comparten cierto número de características destacadas o presentan un gran parecido. Este término y el de género no están perfectamente definidos en bacteriología, debido a que se desconoce la evolución de las bacterias, dato importante para definir estas categorías en los seres superiores. Por otro lado, es difícil definirlos al elegirse las características importantes muchas veces de forma arbitraria.

Las agrupaciones de individuos que componen la especie se denominan en microbiología cepas o clones. Una *cepa* es un cultivo puro derivado de un solo aislamiento. *Clon* es un cultivo formado por los descendientes de una sola bacteria aislada mediante micromanipulador.

En la especie integrada por cepas hay que distinguir otros conceptos importantes, como el de *cepa tipo*, que es aquella que corresponde a la primera descripción y caracterización taxonómica de una nueva especie, *cepa neotipo*, que designa a aquellas que sustituyen las cepa tipo que se han perdido y son idénticas en sus características a las tipo, y *cepas de referencia*, que comprenden aquellas que se utilizan con motivos comparativos hasta la designación de una cepa tipo o neotipo por los subcomités de taxonomía bacteriana nombrados al respecto.

En raras ocasiones, las especies se dividen en subespecies de acuerdo con criterios muy diversos (variedades). Pero mucho más a menudo, dentro de aquellas especies se consideran formas infrasubespecíficas como *biovar* (biotipos), *morfovar* (morfotipo), *fagovar* (fagotipos o lisotipos) y *serovar* (serotipo). Como se puede observar, las formas infrasubespecíficas son categorías establecidas sobre la base de variaciones menores y definidas por serología, fagotipia, morfología, etc.

En relación con el término de «especie», hay que separar las de *taxoespecie* y *genoespecie*. La primera engloba un grupo de individuos que comparten una alta similitud y se individualizan por rasgos fenotípicos de especies cercanas. Son grupos que surgen en el análisis taxonómico numérico. En la genoespecie se integran aquellos individuos capaces de intercambiar espontáneamente material genético cromosómico por hibridación o transferencia genética.

El género está formado por un grupo de especies íntimamente relacionadas. Dentro de él es importante conocer la especie *tipo*, que debido a sus características representa dicho género.

Un grupo de géneros estrechamente relacionados constituyen una *familia*, en la que asimismo existe un género *tipo*.

El orden, clase, división y reino y otras categorías intermedias se definen de forma parecida.

Criterios utilizados para establecer las clasificaciones

Las distintas categorías taxonómicas se definen por las propiedades y características que poseen las bacterias que las constituyen. Estos datos, que informan sobre microorganismos, reciben el nombre de *caracteres taxonómicos*. Para conseguir una clasificación adecuada, es necesario utilizar la mayor cantidad posible de caracteres taxonómicos, con el fin de abarcar tanto las propiedades fenotípicas como genotípicas de las bacterias que la integran.

Los caracteres deben ser completos, suficientes en número, de alta calidad y reproductibles, y pueden ser, entre otros, de los tipos siguientes:

1. Morfológicos: forma; tamaño; características tintoriales; presencia, forma y localización de esporos; presencia, número y disposición de flagelos; existencia o no de pared celular, cápsula, etc.
2. Fisiológicos: tipo respiratorio, temperatura de crecimiento, etc.
3. Nutricionales: requerimientos nutritivos, capacidad de crecer en medios con nutrientes simples, etc.
4. De cultivo: morfología de las colonias en distintos medios.
5. Bioquímicos: características enzimáticas, fermentativas, tipo de metabolismo y productos resultantes de éste, etc.
6. Constitución química de la pared, cápsula, proteínas, etc.
7. Sensibilidad a diversos antibacterianos y desinfectantes.
8. Sensibilidad a fagos y bacteriocinas.
9. Antigénicos: se emplean mucho para determinar categorías infrasubespecíficas, por ejemplo los serotipos de *Streptococcus pneumoniae*.
10. Genéticos: habitualmente se emplea el porcentaje de G + C de ADN, técnicas de hibridación, etc.

Tipos de clasificación

Aun hoy, es imposible llevar a cabo una clasificación natural de las bacterias. Por un lado, se carece de información filogénetica y evolutiva, y, por otro, a veces las bases genéticas no son firmes, dadas las múltiples formas que poseen las bacterias para intercambiar su material genético.

Hasta hace no mucho tiempo, las clasificaciones se realizaron barajando caracteres fácilmente observables y en

ocasiones en escaso número. En la actualidad se obtienen clasificaciones genéticas y alguna variedad de filogenéticas, y se expresa el resultado final según el sistema binominal de Linneo. Realmente se entremezclan datos aportados por ambos tipos de clasificación.

Fenética o fenotípica

Toma como base de observación las relaciones del fenotipo que existen en la actualidad entre las diversas bacterias y grupos bacterianos. Para su ejecución es adecuada la taxonomía numérica.

Taxonomía numérica. También se conoce como taxonomía adansoniana, computarizada, fenética o clasificación numérica. En este método se busca el grado de similitud entre dos microorganismos usando un amplio número de cepas (unidades taxonómicas operacionales = UTO_s) y contrastando un gran número de propiedades fenotípicas, normalmente entre 50 y 200 (características bioquímicas, morfológicas, culturales y de sensibilidad a antibióticos y compuestos inorgánicos).

A las propiedades y características, tanto presentes como ausentes de las distintas cepas (UTO_s), se les da el mismo valor. Los resultados de cada cepa se introducen en una computadora para determinar las semejanzas y diferencias entre los microorganismos y establecer así los grados de relación entre los distintos grupos.

Estos grados de relación están determinados por el número de similitudes entre las diversas propiedades de los microorganismos. Se calcula el coeficiente de similitud (Cs)

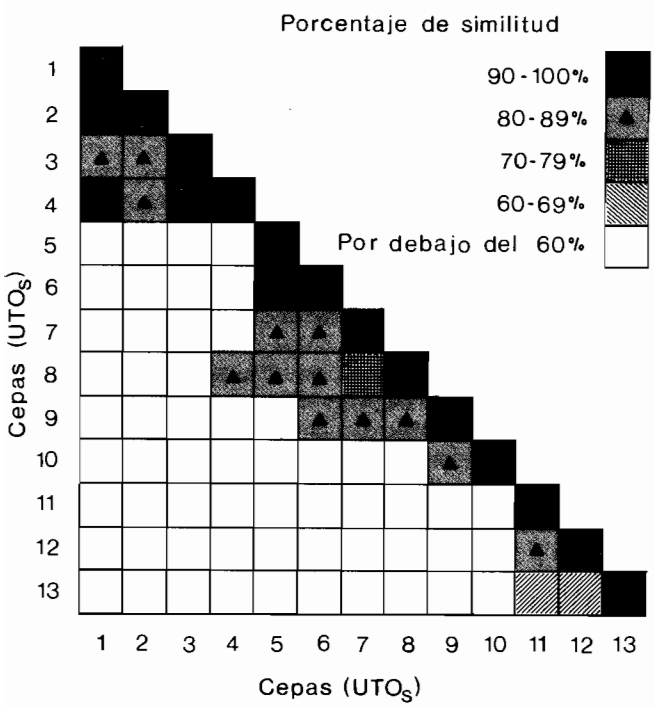


Fig. 10-1. Taxonomía adansoniana (ejemplo). Agrupación de 13 diferentes cepas de bacterias de acuerdo con su índice de similitud. El grado de sombreado del cuadrado correspondiente, que surge en la intersección de dos cepas, indica el grado de similitud existente entre cada par.

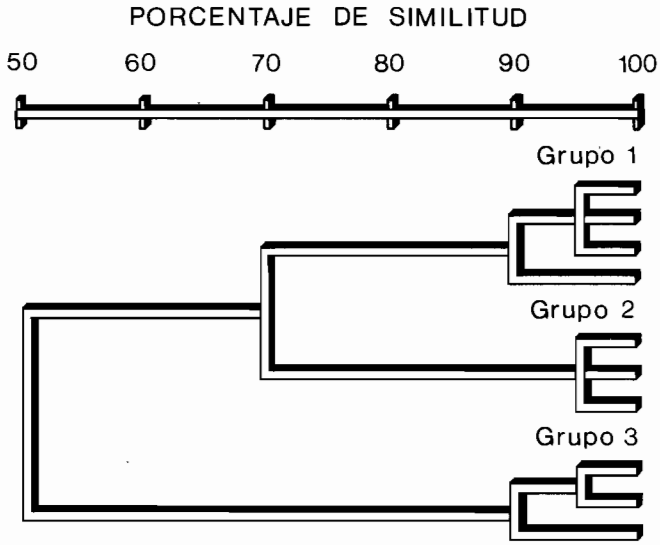


Fig. 10-2. Esquema de un árbol taxonómico o dendrograma.

y el porcentaje de similitud (Ps) entre las cepas según las fórmulas siguientes:

$$Cs = \frac{Ns}{(Ns + Nd)} \qquad Ps = \frac{Ns}{(Ns + Nd)} \times 100$$

donde Ns es el número de similitudes entre dos cepas y Nd, la cifra de diferencias. Ambos (Ns + Nd) suman el número total de pruebas.

Los porcentajes de similitud se pueden tabular para conocer la relación de cada microorganismo con cada uno de los otros que componen el grupo que se investiga (fig. 10-1). En esta tabulación, los resultados se pueden expresar numéricamente o por distintos tonos de sombreado que corresponden a un determinado porcentaje.

Los datos obtenidos se pueden disponer de varias formas; la más utilizada es el dendrograma o árbol taxonómico (fig. 10-2). Se trata de una figura arboriforme, semejante a los árboles genealógicos, con una escala de similitudes que indica los niveles de relación en lugares donde se unen las ramas. En esta figura, las cepas (UTO_s) se reúnen en grupos y entre sí en relación a su similitud. Aunque a todas las propiedades se les da el mismo valor, en ciertos casos a alguno se les da un valor especial, como es el de los esporos en el género *Clostridium*, por ejemplo. En dicha figura se puede observar cómo en el primer grupo hay cuatro cepas (UTO_s). Tres de ellas, con una similitud del 95 %, se unen a la cuarta a nivel del 90 %. Las tres cepas del grupo 2 tienen una misma similitud (95 %) y, de las del grupo 3, hay dos con un 95 % y éstas presentan una similitud con la última del 90 %. El primero y segundo grupos tienen una similitud del 70 %, y éstos con el tercero, del 50 %.

Filogenética

Existen dos variantes:

Cladística. Se basa en estudios genealógicos, comprobándose el parentesco evolutivo de los organismos. Su utiliza-

ción no es posible para las bacterias porque se carece de la información necesaria para su realización. Los fósiles bacterianos existentes proporcionan pocas pruebas, y cabe señalar únicamente que las bacterias tienen un origen muy remoto.

Patrística. Se fundamenta en las relaciones genéticas generales que tienen las bacterias sobre la base de unos antepasados comunes. Para su realización se emplean técnicas de biología molecular con el fin de determinar la relación entre ADN de distintas bacterias. Los parámetros genéticos utilizados son:

Composición de bases. El contenido de guanina + citosina (G + C) oscila en las bacterias entre 25 y 75 %. Es fundamentalmente un carácter taxonómico negativo, y, por lo tanto, cuando hay grandes diferencias, no existen o son pocas las similitudes en la secuencia de bases y se trata por ello de especies distintas. Se considera que hay grandes diferencias cuando son superiores al 10 %. Una secuencia de bases (G + C) similar o idéntica no implica necesariamente una afinidad genética (patrística) cercana. Es decir, las cepas de una misma especie obligadamente deben tener un porcentaje de guanina + citosina semejante, pero existen especies dispares que pueden compartirlo; así, por ejemplo, *E. coli, Salmonella* y *Morganella morganii* tienen de 50 a 52 % de G + C. Por ello es necesario utilizar estos datos conjuntamente con las propiedades fenotípicas.

Tamaño o peso molecular del genoma. El ADN de las bacterias varía considerablemente y su peso molecular oscila entre 1×10^9 y 8×10^9. Como en el caso anterior, es un carácter básicamente negativo y los microorganismos que tienen un tamaño de genoma muy diferente están poco relacionados. La existencia de un tamaño similar o idéntico no implica obligatoriamente una afinidad genética (patrística), aunque las cepas de una especie deban poseer el mismo tamaño del genoma. La realización de esta técnica se representa esquemáticamente en la figura 10-3.

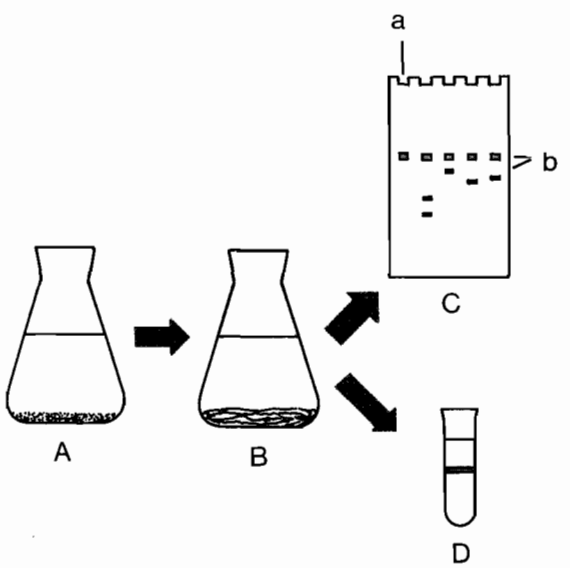


Fig. 10-3. Determinación del PM del ADN. A) Cultivo de la cepa problema. B) Extracción del ADN. C) Determinación del PM por electroforesis: a) zona de depósito de la muestra; b) banda de migración. D) Determinación del PM por gradiente de densidad (cloruro de cesio).

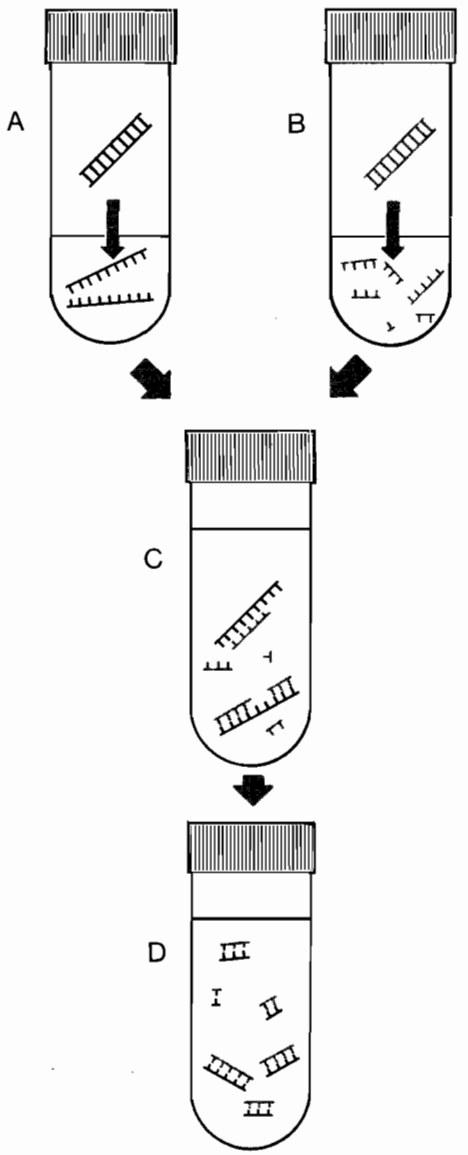


Fig. 10-4. Hibridación del ADN. A) Calentamiento del ADN marcado con objeto de separar ambas cadenas. B) Calentamiento del ADN problema. C) Mezcla y enfriamiento para la reasociación de las cadenas. D) Valoración de la homología determinando el porcentaje de unión entre las bases.

Análisis de pares. Mediante este procedimiento se caracteriza el ADN, analizando las 16 secuencias posibles de bases que puedan existir a lo largo de su cadena. Tiene una gran importancia, ya que constituye el primer paso para la determinación de estas secuencias y, por lo tanto, tiene un significado genético (patrístico) directo.

Hibridación del ADN. Es un medio que permite comprobar si cadenas simples de ADN de dos organismos pueden formar entre sí cadenas dobles estables (heterodúplex) sin conocer la secuencia de bases y en este caso son idénticos o muy similares. Por lo tanto, se mide la cantidad de secuencias de ADN que se unen en común entre dos organismos. En la figura 10-4 se muestra esta técnica. Cuando la reasociación tiene lugar a una temperatura óptima, se puede determinar qué cepas relacionadas en un 70 a 100 % pertenecen a la misma especie y entre 0 y 60 %, a diferentes especies.

El paso posterior sería determinar la estabilidad térmica de las secuencias de ADN reasociadas. Mediante este procedimiento se comprueba no sólo si se produce la unión, sino también cuál es el apareamiento del heterodúplex. Para ello, se compara la temperatura de fusión del ADN de uno de los organismos, que sirve como testigo, con el del heterodúplex formado con una cadena de éste y otra del segundo organismo. Si la temperatura de fusión es inferior en el segundo, cada 1 °C que desciende equivale a un 1 % de bases mal apareadas. Cuando la relación es del 70 % o más, hay del 0-5 % de divergencias y entre diversas especies, del 8 al 20 %.

La técnica de hibridación se puede realizar a temperatura ligeramente inferior a la óptima y en este caso los porcentajes de relación bajan un 10 %, es decir, en una misma especie del 60 al 100 % y entre distintas especies menos del 50 %.

El estudio de la relación del ADN ha permitido establecer definiciones de especie no sujetas a variaciones fenotípicas, mutaciones o presencia de plásmidos. Estos estudios se han realizado, entre otros microorganismos, en enterobacterias, *Pseudomonas*, *Bacteroides*, *Vibrio*, *Haemophilus*, *Legionella*, *Neisseria*, etc. La definición genética de la especie *E. coli* sería la de cepas con un porcentaje de G + C de 49-52 %, un tamaño de genoma del $2{,}3 \times 10^9$ - 3×10^9 daltons, una relación del 70 % a temperatura óptima, con una divergencia de 0 a 4 %, y una relación a temperatura subóptima del 60 %.

NOMENCLATURA

Código internacional de nomenclatura de las bacterias (International Code on Nomenclature of Bacteria)

Es la fórmula jurídica que regula la nomenclatura de las bacterias. El código actualmente válido es la revisión de 1976 del aprobado en el Primer Congreso Internacional de Bacteriología, celebrado en Jerusalén, en 1973. En este libro también se incluyen los estatutos del Comité Internacional de Sistemática Bacteriana (International Committee on Systematic Bacteriology, ICSB) y los estatutos de la Sección Bacteriana de la Asociación Internacional de Sociedades de Microbiología. El código está dividido en tres partes fundamentales: principios, reglas y recomendaciones.

En los principios se refleja la necesidad de que las bacterias tengan nombres fijos que eviten confusión o error y se constituyan con términos latinos y latinizados.

En el apartado de reglas se refleja la forma correcta de denominar las distintas categorías taxonómicas y su grado jerárquico (rango). Como se ha señalado, se debe emplear el latín o palabras latinizadas.

Las categorías taxonómicas incluidas entre orden y subtribu, ambas inclusive, tienen que terminar en los sufijos que se señalan en la tabla 10-3.

El nombre de especie es una combinación binaria que consta del nombre del género seguido de un único epíteto específico, por ejemplo, *Bacteroides fragilis*.

Siempre el nombre genérico se escribe con mayúscula inicial y singular, y el epíteto específico y su inicial, siempre en minúscula. El nombre genérico habitualmente se refiere a alguna característica del organismo, por ejemplo, *Legionella*, por haber sido aislada en antiguos legionarios, y *Bacillus*, pequeño bastón, o bien se da en honor de algún científico, *Pasteurella*, en honor de Pasteur, *Bordetella*, en honor de Bordet, etc.

Tabla 10-3. Sufijos de categorías

Rango	Sufijo	Ejemplo
Orden	*-ales*	*Pseudomonadales*
Suborden	*-ineae*	*Pseudomonadineae*
Familia	*-aceae*	*Pseudomonadaceae*
Subfamilia	*-oideae*	*Pseudomonadoideae*
Tribu	*-eae*	*Pseudomonadeae*
Subtribu	*-inae*	*Pseudomonadinae*

El nombre específico califica en ocasiones el título genérico, *Bacteroides fragilis* (frágil), *Staphylococcus epidermidis* (de la epidermis), etc.

La subespecie (variedad) es una combinación ternaria, con un tercer epíteto subespecífico en minúsculas. Debe estar precedido de la abreviatura subsp., por ejemplo, *Bacteroides ruminicola* subsp. *brevis*.

En este apartado, también se debe hacer referencia a las formas infrasubespecificas y a los tipos que ya han sido tratados al hablar de las categorías y rangos taxonómicos. Los nombres de las distintas categorías taxonómicas deben expresarse gráficamente en cursiva o subrayados (*Nocardia asteroides*).

Lista aprobada de nombres bacterianos (Approved List of Bacterial Names)

Es una enumeración realizada por el comité correspondiente de la Comisión Jurídica del ICSN (International Committee of Systematic Bacteriology). En ella se recogen cuáles son los nombres válidos y correctos para las distintas categorías taxonómicas hasta enero de 1980. Cualquier denominación anterior se considera ilegítima e invalidada. Se ha realizado con la colaboración de los distintos subcomités de taxonomía, que están integrados por especialistas en distintos grupos bacterianos, por ejemplo, el subcomité de *Brucella*. En esta lista se incluyen las cepas tipo y el lugar donde se pueden encontrar las descripciones de las distintas bacterias y categorías taxonómicas, que coinciden generalmente con el Manual Bergey.

Esta lista fue publicada en el International Journal of Systematic Bacteriology. Los nuevos nombres y combinaciones publicados posteriormente se han recogido también en esta revista.

Revista internacional de sistemática bacteriana (International Journal of Systematic Bacteriology, IJSB)

Es el órgano oficial del ICSB, de la Asociación Internacional de Sociedades de Microbiología. Es una publicación fundamental para la actualización en taxonomía bacteriana, pues recoge no sólo trabajos de investigación, sino también informes y actas de los distintos subcomités internacionales de taxonomía.

Tabla 10-4. Clasificación del Manual de Bergey: Bacterias de interés médico

Reino Procaryotae
- División I: *Gracilicutes*
- División II: *Firmicutes*
- División III: *Tenericutes*
- División IV: *Mendosicutes*

Sección 1: Espiroquetas
- Orden I: *Spirochaetales*
- Familia I: *Spirochaetaceae*
  - Género III: *Treponema*
  - Género IV: *Borrelia*
- Familia II: *Leptospiraceae*
  - Género I: *Leptospira*

Sección 2: Bacterias gramnegativas, helicoidales/vibroides, aerobias/microaerófilas
- Género: *Campylobacter*

Sección 4: Bacilos y cocos gramnegativos aerobios
- Familia I: *Pseudomonadaceae*
  - Género I: *Pseudomonas*
- Familia VII: *Legionellaceae*
  - Género I: *Legionella*
- Familia VIII: *Neisseriaceae*
  - Género I: *Neisseria*
  - Género II: *Moraxella*
  - Género III: *Acinetobacter*
  - Género IV: *Kingella*
  - Otros géneros:
  - Género *Flavobacterium*
  - Género *Alcaligenes*
  - Género *Brucella*
  - Género *Bordetella*
  - Género *Francisella*

Sección 5: Bacilos gramnegativos anaerobios facultativos
- Familia I: *Enterobacteriaceae*
  - Género I: *Escherichia*
  - Género II: *Shigella*
  - Género III: *Salmonella*
  - Género IV: *Citrobacter*
  - Género V: *Klebsiella*
  - Género VI: *Enterobacter*
  - Género VII: *Erwinia*
  - Género VIII: *Serratia*
  - Género IX: *Hafnia*
  - Género X: *Edwarsiella*
  - Género XI: *Proteus*
  - Género XII: *Providencia*
  - Género XIII: *Morganella*
  - Género XIV: *Yersinia*
  - Otros géneros:
  - Género *Kluyvera*
  - Género *Rahnella*
  - Género *Cedecea*
  - Género *Tatumella*
- Familia II: *Vibrionaceae*
  - Género I: *Vibrio*
  - Género III: *Aeromonas*
  - Género IV: *Plesiomonas*
- Familia III: *Pasteurellaceae*
  - Género I: *Pasteurella*
  - Género II: *Haemophilus*
  - Género III: *Actinobacillus*
  - Otros géneros:
  - Género *Chromobacterium*
  - Género *Cardiobacterium*
  - Género *Calymmatobacterium*
  - Género *Gardnerella*
  - Género *Eikenella*
  - Género *Streptobacillus*

Sección 6: Bacilos gramnegativos anaerobios estrictos, curvos y helicoidales
- Familia I: *Bacteriodaceae*
  - Género I: *Bacteroides*
  - Género II: *Fusobacterium*
  - Género III: *Leptotrichia*
  - Género IV: *Wolinella*

Sección 8: Cocos gramnegativos anaerobios
- Familia I: *Veillonellaceae*
  - Género *Veillonella*

Sección 9: Rickettsias y Clamidias
- Orden I: *Rickettsiales*
- Familia I: *Rickettsioceae*
- Tribu I: *Rickettsieae*
  - Género I: *Rickettsia*
  - Género II: *Rochalimaea*
  - Género III: *Coxiella*
- Familia II: *Bartonellaceae*
  - Género I: *Bartonella*
- Orden II: *Chlamydiales*
- Familia I: *Chlamydiaceae*
  - Género I: *Chlamydia*

Sección 10: Micoplasmas
División *Tenericutes*
- Clase I: *Mollicutes*
- Orden I: *Mycoplasmatales*
- Familia I: *Mycoplasmataceae*
  - Género I: *Mycoplasma*
  - Género II: *Ureaplasma*

Sección 12: Cocos grampositivos
- Familia I: *Micrococcaceae*
  - Género I: *Micrococcus*
  - Género IV: *Staphylococcus*
  - Otros géneros:
  - Género *Streptococcus*
    - Estreptococos hemolíticos piógenos
    - Estreptococos orales
    - Enterococos *(Enterococcus)*
    - Estreptococos anaerobios
  - Género *Peptostreptococcus*

Sección 13: Cocos y bacilos grampositivos esporulados
- Género *Bacillus*
- Género *Clostridium*

Sección 14: Bacilos grampositivos no esporulados regulares
- Género *Lactobacillus*
- Género *Listeria*
- Género *Erysipelothrix*

Sección 15: Bacilos grampositivos no esporulados irregulares
- Género *Corynebacterium*
- Género *Gardnerella*
- Género *Arachnia*
- Género *Propionibacterium*
- Género *Eubacterium*
- Género *Actinomyces*
- Género *Bifidobacterium*

Sección 16: Micobacteria
- Género *Mycobacterium*

Sección 17: Nocardiformes
- Género *Nocardia*
- Género *Rhodococcus*

Manual de Bergey (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology)

El Bergey's Manual of Determinative Bacteriology es un tratado que se ocupa de la clasificación, taxonomía e identificación de las bacterias.

En 1984, esta publicación cambió el título a *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática). En ese año aparece el primer volumen de los cuatro previstos para esta 1.ª edición; en 1986 ha aparecido el segundo. Estos dos volúmenes incluyen prácticamente todas las bacterias de interés médico. Así, en el primero se recogen las bacterias gramnegativas, que incluyen espiroquetas, rickettsias, clamidias y micoplasmas (bacterias sin pared celular); en el segundo, se relacionan todas las bacterias grampositivas, salvo actinomicetos. El volumen tercero se ocupará de las arqueobacterias, cianobacterias y otras gramnegativas. El cuarto tratará de los actinomicetos.

En general, el manual se adapta bastante a la «Lista Aprobada de Nombres Bacterianos» y a las relaciones o listas complementarias, publicadas con posterioridad a 1980 y utilizadas como base de la nomenclatura y clasificación.

En esta primera edición de la nueva etapa (1984-1986), las bacterias se distribuyen en secciones. En la tabla 10-4 se relacionan aquellas que tienen interés médico. Las distintas secciones se han constituido sobre la base de caracteres descriptivos morfológicos y metabólicos, por ejemplo, espiroquetas, cocos y bacilos aerobios gramnegativos, cocos grampositivos, etc.

En cada una de las secciones se engloban distintos rangos taxonómicos que varían considerablemente. Algunos llegan a tratar de divisiones, en tanto que otros se ocupan de géneros. Un carácter que se mantiene constante es el estudio de géneros y sus correspondientes especies, categorías taxonómicas ambas que son fundamentales en su estructuración. Los que no encajan perfectamente en alguna de las familias o secciones se les denomina «género de afiliación dudosa» o se incluyen en el de «otros géneros». Las especies no bien descritas, definidas sin cepa tipo, neotipo o de referencia, se catalogan como *species incertae sedis*.

Las propiedades empleadas para la diferenciación son: características morfológicas microscópicas, morfología de las colonias y pigmentación, condiciones de crecimiento y nutrición, fisiología y metabolismo, características genéticas, plásmidos y bacteriófagos, estructura antigénica, patogenicidad y ecología. En general, en cada especie se incluye la cepa tipo.

Las bacterias están situadas en el Manual Bergey en el reino **Procaryotae**, en el que se reconocen cuatro divisiones: *Gracilicutes* (procariotas, con pared celular, gramnegativas), *Firmicutes* (procariotas, con pared celular, grampositivas), *Tenericutes* (procariotas, sin pared celular) y *Mendosicutes* (procariotas filogenéticamente anteriores a las divisiones mencionadas, como las arquebacterias y otras).

BIBLIOGRAFIA

Buchanan, R. E., y Gibbons, N. E. (dirs.): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8.ª ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1979.

Hill, L. R.: Advances in bacterial taxonomy. En De Louvois, J. (dir.): Selected Topics in Clinical Bacteriology. Ballière Tindall, London, 1976.

Krieg, N. R., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Lapage, S. P.; Speath, P. H. A.; Lessel, E. F.; Skerman, V. B. D.; Seeliger, H. P. R., y Clark, W. A.: International code of nomenclature of bacteria. American Society for Microbiology, Washington, 1975.

Skerman, V. B. D.; McGowan, V., y Sneath, P. H. A.: Approved lists of bacterial names. Int. J. Syst. Bacteriol., 30, 225-420, 1980.

Sneath, P. H. A.: Classification of microorganisms. En Norris, J. R., y Richmond, M. H. (dirs.): Essay in Microbiology. Wiley, Chichester, 1978.

Sneath, P. H. A.; Mair, N. S.; Sharpe, M. E., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, 1986.

Capítulo 11

Agentes físicos y químicos

Gonzalo Piédrola-Angulo

En la práctica médico-quirúrgica diaria de las enfermedades transmisibles, en el trabajo del laboratorio de microbiología e incluso en la higiene y saneamiento diario de locales, personas, alimentos, etc., tienen importantísima aplicación los procedimientos, técnicas y productos que suprimen o disminuyen la vitalidad de los microorganismos patógenos. En la actualidad, la necesidad de su aplicación es mayor, pues en la clínica por el uso y abuso de antibióticos y quimioterápicos se han descuidado las medidas clásicas de asepsia, al par que se ha exaltado la virulencia de los microorganismos, que, además, se han hecho resistentes a aquéllos al asistir a enfermos y traumatizados con defensas muy debilitadas, a lo que se suele unir el empleo de técnicas exploratorias y de tratamiento muy agresivas.

Los microorganismos, como todos los seres vivos, se encuentran en la naturaleza inmersos en un medio ambiente; su normal fisiología y desarrollo van a depender, por una parte, de su metabolismo, que es dirigido por numerosas enzimas reguladas por el núcleo, y, por otra, de los factores ambientales en los que éste se desarrolle. Las circunstancias físicas y químicas en las que los microbios se encuentren tienen una influencia favorable o desfavorable, decisiva en su crecimiento y desarrollo. Los aspectos favorables son estudiados con la fisiología de los microorganismos; aquí interesan fundamentalmente los que resultan desfavorables para éstos, y tienen su aplicación práctica en los estudios de microbiología, como técnicas de desinfección y esterilización. En este capítulo se estudian, en primer lugar, los mecanismos de acción y, a continuación, los distintos agentes físicos y químicos, y se finaliza con los conceptos actuales de desinfección, esterilización y fundamentos de la valoración de los antisépticos y desinfectantes.

AGENTES FISICOS

Los agentes físicos que mayor influencia tienen en la fisiología de los microorganismos son la temperatura, la humedad, las radiaciones y los agentes mecánicos (tabla 11-1).

Temperatura

Los sistemas enzimáticos de las bacterias tienen una temperatura ideal de funcionamiento en la que se desarrollan mejor, lo que se conoce como temperatura óptima. Por encima y debajo de esta temperatura siguen viviendo las bacterias dentro de amplios márgenes; estos límites superior e inferior se llaman temperatura máxima y mínima de desarrollo. Estos márgenes son extraordinariamente variables de unas bacterias a otras. Por ejemplo, en *E. coli* están entre 8 y 47 °C y en *N. gonorrhoeae*, entre 30 y 40 °C. Se admiten como temperaturas extremas la de congelación del agua y la de coagulación de las proteínas, es decir, 0 y 80 °C.

Por temperaturas óptimas de crecimiento se clasifican las bacterias en:

Psicrófilas. Cuando crecen entre 0 y 20 °C, con un óptimo de 15 °C. Suelen contaminar los alimentos, la sangre refrigerada y las aguas frías de manantiales o lagos.

Mesófilas. Las que se desarrollan entre 20 y 45 °C. Son las más numerosas y las que más interesan en medicina; se clasifican en dos grupos: uno con desarrollo óptimo de 20 a 35 °C, que comprende los microbios saprofitos y parásitos de plantas y animales inferiores, y otro que vive mejor entre 35 y 45 °C, y suele encontrarse en el hombre y animales superiores; a éste pertenecen la mayor parte de las bacterias patógenas.

Termófilas. Tienen una temperatura óptima por encima de los 45 °C. Son las bacterias que forman la mayor parte de la flora de los suelos calientes y fuentes termales.

Como se comprende fácilmente, el efecto nocivo sobre el desarrollo bacteriano puede conseguirse por medio del calor o del frío. Estudiaremos por separado ambos efectos.

Acción del calor

La destrucción de las bacterias depende fundamentalmente de la temperatura y de su sensibilidad al calor. Se denomina punto térmico mortal (PTM) a la temperatura mínima necesaria para destruir una suspensión bacteriana en 10 minutos. Este método suministra resultados poco precisos y difícilmente reproducibles, por lo que es preferible determinar el tiempo térmico mortal (TTM). Este TTM es el tiempo necesario para matar las bacterias o esporos a temperatura constante, teniendo en cuenta el carácter del medio y otros datos.

Tabla 11-1. Principales agentes físicos utilizados en microbiología

- *Temperatura*
  - Calor
    - Húmedo
      - Ebullición
      - Pasteurización
      - Tindalización
      - Vapor de agua
        - Fluente
        - A presión: autoclave
    - Seco
      - Flameado
      - Incineración
      - Aire caliente: horno
      - Estufa de infrarrojos
  - Frío
- *Humedad*
  - Desecación
  - Liofilización
- *Radiaciones*
  - Infrarrojos
  - Ultravioletas
  - Ionizantes
- *Agentes mecánicos*
  - Ultrasonidos
  - Cepillado
  - Filtración
    - Clásica
    - De membrana
    - Aérea

El efecto destructivo del calor sobre las bacterias está en íntima relación con el grado de humedad del ambiente en el que aquél se aplique, por lo que hay que distinguir entre la acción del calor húmedo y la del calor seco.

Calor húmedo. El calor húmedo tiene un efecto mayor y más rápido sobre las bacterias, porque el agua es un buen conductor, con lo que el calor penetra mejor y se distribuye más uniformemente. El calor húmedo se puede aplicar en forma de agua caliente o como vapor de agua. Destruye los microorganismos por coagulación y desnaturalización de las estructuras proteicas y enzimas.

El agua hirviente a 100 °C, aplicada durante 10 a 30 minutos, destruye todas las formas vegetativas de las bacterias. Sin embargo, en ocasiones es necesario aplicar estos procedimientos a sustancias que se alterarían a temperaturas tan altas y se recurre a técnicas que usan temperaturas inferiores. La pasteurización aplica el calor 30 minutos a 63 °C, con lo que se consigue la destrucción de todas las formas vegetativas, a excepción de las termófilas; se usa en el saneamiento de la leche. Existe un tipo de pasteurización llamado alta o Stassanización, que se aplica durante 15 segundos a 72-75 °C en capa fina. Otro procedimiento que se usa con frecuencia es el calentamiento intermitente o tindalización; consiste en someter el producto tres días sucesivos a un calentamiento entre 56 y 100 °C (por lo general a 65 °C) durante media hora, con lo que se destruyen las formas vegetativas. En los intervalos a temperatura ambiente o a 37 °C, los esporos germinan y las bacterias resultantes de ellos se hacen sensibles al calentamiento posterior.

El vapor de agua se puede aplicar sobre las bacterias como vapor fluente, a 100 °C, o como vapor a presión, con lo que las temperaturas alcanzadas son mucho más altas. El vapor fluente tiene una acción similar a la del agua a 100 °C, por lo que sus tiempos de aplicación son iguales a aquélla; este sistema se usa con frecuencia en el laboratorio cuando se trata de esterilizar medios de cultivo que llevan sustancias que se pueden alterar a temperaturas superiores, por ejemplo, determinados azúcares.

El vapor de agua a presión es una técnica de destrucción de bacterias muy usada y efectiva (olla a presión o *autoclave*) (fig. 11-1). El vapor de agua se aplica en una cámara cerrada en la que existe un generador de vapor; cuando éste se produce, desplaza al aire, que sale por un orificio que se cierra en el momento en que ya sale vapor. Posteriormente se consigue la presión deseada, teniendo en cuenta que el vapor a 1 atm de presión corresponde a 121 °C de temperatura; esta temperatura, aplicada durante 15 a 20 minutos, ó 134 °C durante 7 minutos destruye todas las formas vegetativas y esporuladas. El uso del autoclave, que es uno de los métodos más importantes de esterilización en el medio hospitalario, requiere unos *indicadores*, que comprueben que en el interior del recipiente se han dado las condiciones deseadas de temperatura y tiempo. Los principales fallos en la esterilización se deben al mal funcionamiento del equipo o a que el programa era inadecuado. Los indicadores de esterilización más usados son:

1. Productos químicos, que cambian de color según los niveles alcanzados.
2. Esporos de ciertas bacterias.
3. Aleaciones.

Calor seco. Los sistemas de aplicación del calor seco para la destrucción de los microorganismos por una oxidación de los constituyentes esenciales son tres:

1. El flameado es una práctica muy usada en el laboratorio para esterilización del asa de siembra antes de efectuar la siembra de un producto; el flameado no da resultado cuando se aplica a superficies, pues no se suelen alcanzar temperaturas suficientes.
2. La incineración es un procedimiento de esterilización ideal de todos aquellos productos contaminados, en que no importa su destrucción; se utiliza la combustión directa o el horno crematorio. Por este sistema se destruyen apósitos, ropas, cadáveres de animales, etc.
3. El calor seco por aire caliente tiene un menor efecto sobre los microorganismos, por lo que necesita aplicarse durante mayor tiempo que el húmedo; se usa el horno de Pasteur o Poupinel, donde se logra la esterilización en 1 hora a 160 °C, 40 minutos a 170 °C ó 20 minutos a 180 °C (fig. 11-2).

En la destrucción de las bacterias por el calor influyen una serie de factores, como la especie bacteriana, el que sean formas vegetativas o esporuladas, el medio en el que se encuentran las bacterias, el pH y la viscosidad del medio, etc.

Acción del frío

En general, las bacterias son difícilmente destruidas por el frío; sólo algunas, como gonococos y meningococos, se

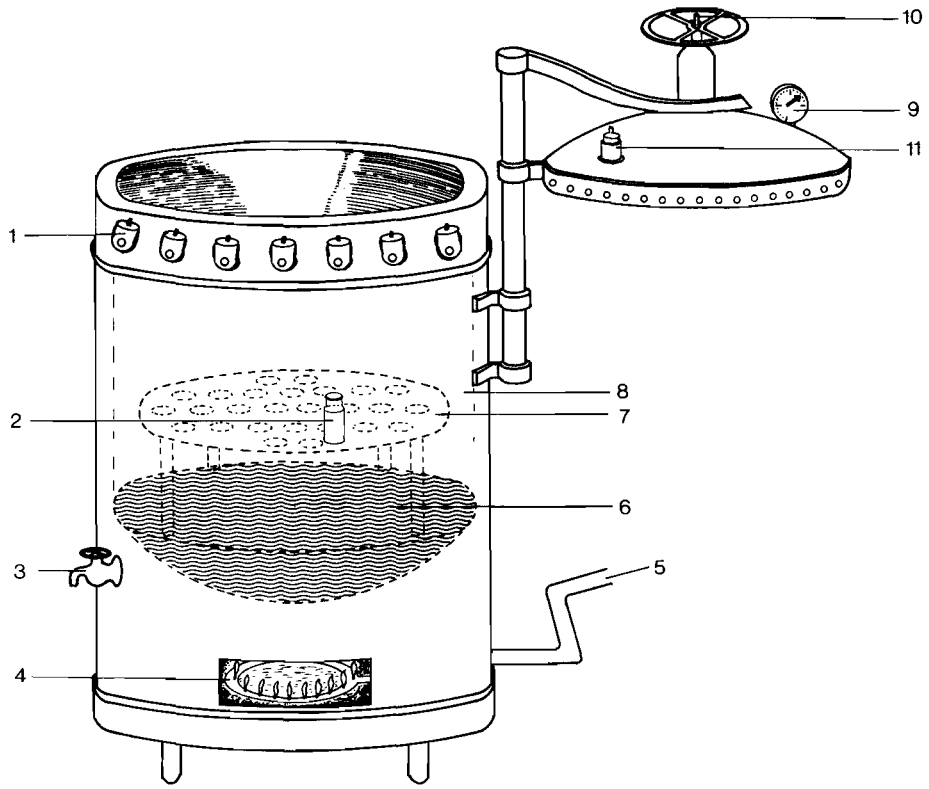


Fig. 11-1. Autoclave. 1) Tornillos móviles para el cierre hermético. 2) Material que hay que esterilizar. 3) Vaciado de la caldera. 4) Fuente de calor. 5) Gas. 6) Agua. 7) Apoyo para alejar el material del agua. 8) Caldera. 9) Manómetro. 10) Cierre de la tapa. 11) Válvula de seguridad.

destruyen a 0 °C. Por debajo de las temperaturas de congelación mueren una gran cantidad de bacterias, pero las que no mueren mantienen su viabilidad durante mucho tiempo; por ello, en general, las bajas temperaturas se considera que impiden la multiplicación bacteriana, pero son un medio de conservación de las cepas bacterianas. A –25 °C se conservan los arbovirus y el virus del sarampión; –170 °C es la temperatura ideal de conservación de *Mycoplasma pneumoniae* y rinovirus. Por su acción, que evita la multiplicación bacteriana, el frío es un magnífico medio de conservación de distintos productos, como reactivos de laboratorios, alimentos, sangre, plasma, etc.

Humedad y desecación

El agua es un elemento fundamental en la composición de las bacterias; por tanto, éstas necesitan un grado de humedad adecuado para su desarrollo. Está en íntima relación con la concentración de sales y, por ello, se habla de humedad relativa en relación a éstas. Cuando el medio es hipotónico en relación a los microorganismos, pasa agua desde éste al interior de la bacteria; en general la bacteria no estalla (fenómeno de plasmoptisis), como ocurre con las células de organismos superiores, porque la pared bacteriana resiste presiones superiores a las que se alcanzan en el interior de aquéllas. Cuando por cualquier circunstancia la pared de la bacteria ha sido destruida o no se ha formado, entonces sí se produce la plasmoptisis. Por el contrario, cuando el medio en el que se encuentra la bacteria es hipertónico, pasa agua del interior de la bacteria al medio ambiente y se produce una retracción del citoplasma bacteria-

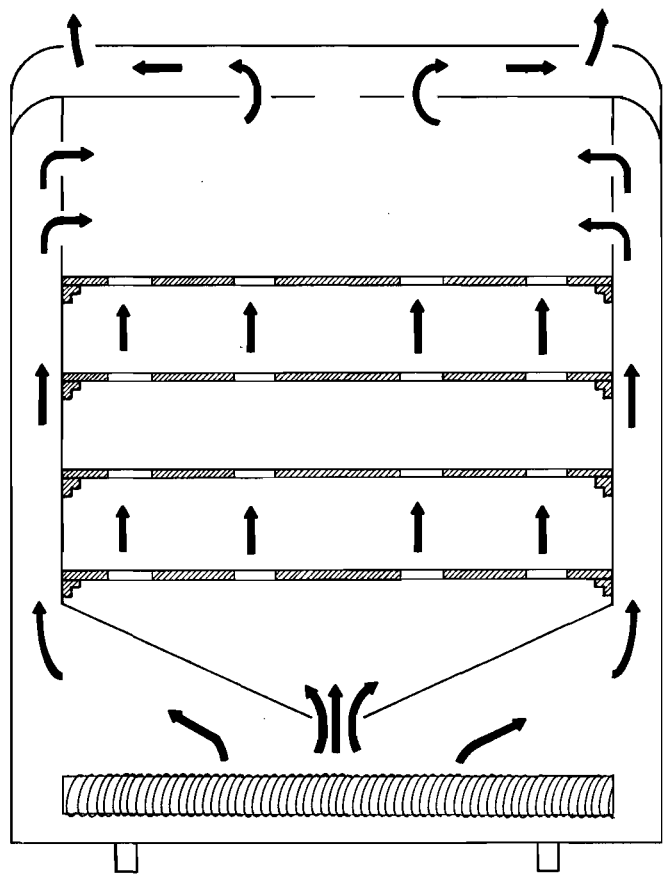


Fig. 11-2. Corte esquemático de un horno empotrado.

no, el llamado fenómeno de plasmólisis. La vitalidad del microbio en estas circunstancias queda alterada, y muere o queda en estado de vida latente. Sin embargo, hay bacterias que necesitan para su desarrollo un medio ambiente hipertónico (son las llamadas osmófilas) o concentraciones elevadas de cloruro sódico (bacterias marinas, las llamadas halófilas). El crear un medio hipertónico es usado en la práctica para evitar la contaminación y desarrollo bacteriano en determinados alimentos, carnes saladas (10-15 %) o frutas azucaradas (50-70 %).

Por la desecación se inhibe el desarrollo de las bacterias y se puede producir la muerte de un gran número de ellas, y quedan sólo los esporos y las más resistentes, como el estafilococo o *M. tuberculosis;* los virus tienen cierta resistencia, igual que los quistes de protozoos y los huevos de parásitos. Aun en los productos desecados, por ejemplo, en el polvo, las bacterias van a resistir algún tiempo por quedar todavía un grado relativo de humedad. La supervivencia de las bacterias dependerá del grado de humedad, pero también de otros factores, como temperatura, pH, oxígeno ambiental, naturaleza del medio, etc.

Radiaciones

Las radiaciones que tienen efectos sobre el crecimiento y desarrollo bacteriano pueden considerarse de tres tipos: la luz solar, las radiaciones ultravioletas y las radiaciones ionizantes.

Radiaciones por rayos infrarrojos

Dentro de las radiaciones de la luz solar, los rayos infrarrojos tienen efecto más o menos directo sobre los microorganismos por su acción calorífica y las radiaciones ultravioletas lo tienen por las acciones que estudiamos a continuación.

Radiaciones por rayos ultravioletas

El efecto de las *radiaciones ultravioletas* sobre las bacterias depende, entre otros factores, de la longitud de onda, pues, si bien los *quanta* tienen poder penetrante suficiente desde 2.000 a 4.000 Å, la capacidad de absorción selectiva de las proteínas y de los ácidos nucleicos es mayor a 2.537 Å, en la que la radiación es fácilmente captada por los anillos purínicos y pirimidínicos; también el efecto depende de la intensidad de radiación y de la distancia al foco. El mecanismo de acción de las radiaciones ultravioletas es múltiple: por una parte, se une a las proteínas y bases púricas y pirimidínicas, alterándolas; por otra, produce ozono en contacto con el aire, y éste actúa sobre las bacterias y, por último, transforma en parte el agua, en agua oxigenada.

Cuando no se aplica una dosis suficiente o el tiempo de exposición es corto, no se produce la muerte, pero en las bacterias supervivientes se producen mutaciones por alteración de los genes; estas mutaciones se manifiestan después de algún tiempo de latencia. Estos efectos no se producen si se reanuda rápidamente el crecimiento o las bacterias son expuestas inmediatamente a la luz solar (fotorreactivación).

Las aplicaciones prácticas de los efectos bactericidas de las radiaciones ultravioletas son múltiples. Se usan radiaciones ultravioletas producidas por las lámparas de mercurio en la preparación de vacunas bacterianas y víricas inactivadas, cabinas de siembra en laboratorios, envasado de antibióticos, lucha contra las infecciones de ambientes de salas de prematuros y quirófanos, esterilización de superficies, potabilización de aguas de mesa, etc. Hay que tener la precaución, cuando se manejen radiaciones ultravioletas, de protegerse los ojos y las manos, para prevenir las conjuntivitis y dermatitis que pudieran producirse.

Radiaciones ionizantes

Las radiaciones ionizantes de mayor poder de penetración, como los rayos X y las radiaciones γ, tienen una energía muy superior a las ultravioletas, penetran en la bacteria y producen una ionización en los átomos de ésta, por lo que sus efectos son más variados: producen una inactivación del genoma bacteriano y de las enzimas y, como consecuencia, la muerte de la bacteria. La fuente más utilizada de radiación γ es el cobalto 60, que emite unos 500.000 Ci, y se requieren 2,5 MCi para conseguir la esterilización.

Las radiaciones ionizantes permiten la denominada *esterilización en frío* o *radioesterilización* y se emplean cuando se trata de material que pueda estropearse por el calor, por ejemplo, las jeringas de uso único o desechable de plástico o los catéteres para uso intravenoso, y también para esterilizar medicamentos diversos, como hormonas, vitaminas y antibióticos, huesos, cartílagos y válvulas cardiacas para trasplantes, etc.

Agentes mecánicos

Ondas sónicas y ultrasónicas

Dentro de los agentes mecánicos, los que tienen más interés por su influencia sobre el metabolismo bacteriano son las *ondas sónicas y ultrasónicas.* Las ondas mecánicas, con una frecuencia superior a 18.000 ciclos por segundo, desnaturalizan las proteínas, destruyen gran cantidad de sustancias y producen la muerte de las bacterias. Las ondas sónicas audibles se ha demostrado que tienen también efecto sobre las bacterias. Las ondas ultrasónicas se usan en la práctica para romper las bacterias y obtener los antígenos, enzimas y demás componentes de su interior. Son vibraciones no audibles, llamadas ondas ultrasónicas o supersónicas, que limpian los instrumentos o material diverso, formando en el seno del líquido, espacios vacíos, miles de veces por segundo. Este «sonido silencioso» es una especie de ebullición en frío que separa la suciedad de la superficie de objetos metálicos, de vidrio o de plástico (cavitación).

Cepillado

Medio mecánico es también el *cepillado* o *loción,* en el que se frota con paños, mopa o cepillos, utilizando agua y un agente químico, como el jabón o detergentes sintéticos, para la eliminación mecánica de la suciedad de las manos, personas, suelos, mobiliario, vajilla, termómetros, utensilios, etc.

Filtración

Consiste en hacer pasar líquidos por un material con poros más pequeños que las bacterias o incluso virus, con lo cual aquéllos quedan libres de microorganismos, según el tamaño de dichos poros. Se emplean membranas de amianto o mejor de acetato de celulosa con porosidad uniforme; existen filtros cuyas porosidades fluctúan de 0,005 a 1 μm y son útiles para obtener líquidos estériles o aislar e identificar microorganismos del aire y del agua. Los *filtros de membrana*, a base de celulosa o diversos polímeros, constituyen hoy día un método muy extendido en microbiología, y el poro de 0,2 μm es el más empleado, ya que retiene todas las bacterias e incluso los virus por un mecanismo de adsorción. Como sus componentes son inertes, permiten múltiples usos; son autoclavizables, pueden ponerse tras el filtrado sobre un medio de cultivo y posteriormente es posible realizar el recuento de colonias crecidas, identificación, etc. Por último, recordemos que la filtración clásica es un método muy importante para la purificación del agua potable.

Hoy se incluyen en este grupo de agentes mecánicos los *filtros de flujo laminar*, que, a base de láminas de acero y polistireno, no permiten el paso de partículas superiores a 0,3 μm, con lo que el aire impulsado a través de ellos es prácticamente estéril, lo cual significa el paso unidireccional y en láminas, de aire limpio y climatizado en temperatura, humedad y velocidad controlables. Los filtros HEPA *(high-efficiency particulate air)* pueden ser de tipo horizontal o vertical, en locales o en *cubiculum* de unidades de aislamiento (muy útiles para los sometidos a un estricto aire purificado, como prematuros, quemados, pacientes bajo tratamiento inmunodepresor, etc.).

AGENTES QUIMICOS

Son muchas las sustancias químicas que tienen efectos nocivos sobre los microbios; su actividad sobre éstos es de dos tipos: unas destruyen las bacterias, hongos o virus y son los agentes bactericidas, fungicidas o viricidas. Otras dificultan o inhiben su crecimiento y son los bacteriostáticos, fungistáticos o virustáticos. Toda sustancia parece ser que tiene un efecto estimulante a concentraciones mínimas sobre el crecimiento bacteriano; a mayores concentraciones es bacteriostática y, a más altas, bactericida.

Recibe el nombre de *desinfección* la práctica que tiene por objeto destruir todos los microbios patógenos que existan sobre personas, animales, ambiente, superficies o cosas; al destruir éstos, se eliminan también gran cantidad de microbios saprofitos. Si pretendemos destruir todo tipo de microbios saprofitos y patógenos, tenemos la técnica, basada en métodos físicos o químicos, llamada *esterilización*. Sólo es aplicable a objetos inanimados; por tanto, la esterilización es la destrucción de todas las formas de vida macro o microscópica, patógena o saprofita, vegetativa o de resistencia. La esterilización se precisa en todos los objetos que vayan a penetrar produciendo una solución de continuidad en la superficie corporal o aquellos que penetren en cavidades estériles y algunos que lo hagan en cavidades no estériles, como en el caso de los biberones y tetinas, utilizándose el autoclave o el horno de Pasteur o desinfectantes químicos enérgicos, como el formol, el aldehído glutárico o el óxido de etileno, siempre que se empleen en concentración adecuada con un cuidadoso control de temperatura, tiempo de actuación, humedad, etc.

Según la FDA, *desinfectantes* son «aquellas sustancias químicas capaces de destruir en 10 a 15 minutos los gérmenes depositados sobre un material inerte o vivo, alterando lo menos posible el sustrato donde residen y abarcando en aquella destrucción todas las formas vegetativas de las bacterias, hongos y virus (excepto el de la hepatitis)».

En la práctica, los *desinfectantes* son potentes microbicidas, pero hasta cierto punto tóxicos o irritativos para los tejidos vivos, por lo que se aplican en superficies, ambientes u objetos contaminados.

El término *antiséptico* se usa para indicar la sustancia que se opone a la existencia o desarrollo de gérmenes sobre la piel o mucosas, heridas, abrasiones, etc. Su objetivo es esencialmente prevenir la multiplicación de microorganismos patógenos.

Otros términos usados, aparte el concepto de agente quimioterápico que se estudia en la lección siguiente, son los siguientes:

1. *Conservador* o preservador. Son sustancias que se utilizan para evitar la contaminación y proliferación bacteriana de una bebida, alimento o producto biológico o farmacéutico.
2. *Sanitizado*. Se trata de objetos inanimados en los que se ha reducido la población bacteriana a unos niveles bajos, que cumplen los requisitos de la legislación en salud pública.
3. *Degerminación*. Término usado en Estados Unidos para expresar la remoción por el lavado o limpieza de microorganismos, sobre todo transeúntes, de la piel.

La velocidad a la que se realiza la esterilización de un producto contaminado bacteriológicamente al que se le ha agregado un desinfectante se ha visto que está en función de una serie de factores, como son la concentración de la sustancia, la temperatura, el pH, la composición química del medio donde se aplica el agente químico, la especie bacteriana que contamina el producto, etc. En general se ha visto que, para una circunstancia determinada, las bacterias mueren en progresión geométrica en relación al tiempo de exposición; esto se demuestra poniendo un cultivo bacteriano en contacto con un desinfectante y comprobando de tiempo en tiempo la población que queda viva, mediante siembras a partir de las muestras en medios adecuados. Si colocamos en una gráfica los resultados obtenidos poniendo en el eje de abscisas el tiempo y en el de ordenadas el número de bacterias viables, veremos que primero decrece rápidamente y luego con mayor lentitud, pero si en el eje de ordenadas colocamos el logaritmo del número de bacterias viables, obtendremos una línea recta que demuestra que los microorganismos mueren en proporción geométrica.

El tiempo en que se obtiene la esterilización completa de un producto por un desinfectante varía mucho de unas bacterias a otras dentro de la misma concentración de producto activo, lo que se comprueba por medio de siembras en placas de la mezcla del producto con el desinfectante de tiempo en tiempo, hasta que no se produzca crecimiento. En los virus es mucho más difícil de comprobar este efecto por la acción de interferencia que ejercen los virus muertos en el crecimiento de las partículas vivas. Esto hace que podamos dividir las sustancias, según sus niveles de acción, en

Tabla 11-2. Niveles de acción desinfectante

	Bacterias				Virus	
	F. vegetativas	Bacilo de Koch	Esporos	Hongos	Con envoltura y de tamaño medio	Sin envoltura y pequeños
Alto	+	+	+	+	+	+
Intermedio	+	+	–	+	+	+
Bajo	+	–	–	+	+	–

+ Indica que el nivel designado como acción microbiana ocurre dentro del período usual de tiempo.

las que tienen un nivel de acción alto, intermedio o bajo (tabla 11-2).

Las condiciones que debe reunir un buen desinfectante se recogen en la tabla 11-3. No hay ninguno que reúna todas y cada una de ellas, por lo que es tendencia actual asociar dos o más productos que sumen sus ventajas, sin acumular los inconvenientes.

Los agentes químicos que actúan sobre las bacterias se pueden clasificar en dos grandes grupos: compuestos químicos inorgánicos y orgánicos (tabla 11-4).

Tabla 11-3. Condiciones que debe reunir un buen desinfectante o germicida de superficies

1. Alta actividad germicida aun diluido y a un precio comercial que resulte en la práctica diaria de coste escaso o moderado
2. Que su espectro de acción sea amplio y abarque las bacterias grampositivas y gramnegativas, bacterias alcohol-resistentes, virus y hongos.
3. Ser bactericida mejor que bacteriostático, o sea que mueran los microbios gradualmente y en un tiempo corto no superior a 15 minutos
4. Ser estable en sus preparados comerciales y permanecer activo, almacenado durante varios meses
5. Que se homogeneice uniformemente en el diluyente, sea éste agua o alcohol, para que tenga el producto activo la misma concentración en toda su masa
6. Que su preferencia o actividad se manifieste en soluciones acuosas que penetren en los exudados, pus, sangre, etc., donde los organismos puedan estar ocultos
7. Que su tensión superficial sea baja para que penetre fácilmente en las rendijas, hendiduras, etc. de las superficies vivas o inertes
8. Que sea compatible con otros productos que puedan usarse antes o simultáneamente, como sucede con el jabón y los clorógenos
9. No ser tóxico para los tejidos humanos sin que precise el uso de guantes o el lavado inmediato de superficies vivas con las que haya entrado en contacto, etc.
10. Que no resulte corrosivo para metales, madera, superficies pintadas, etc., es decir, que no estropee muebles, objetos diversos, etc.
11. Que sus propiedades organolépticas no sean desagradables, especialmente el olor y, en algunos casos, el sabor, y debe ser con preferencia inodoro o de olor agradable
12. No debe desteñir las ropas, paredes, cuadros, libros, etc.
13. Debe conseguir una reducción logarítmica de los microorganismos patógenos, y resulta de más valor cuando consigue esa reducción en el menor tiempo posible, por ejemplo, clorógenos, yodóforos, formol, glutaraldehído
14. No debe diluirse manifiestamente por la temperatura ni por el pH, es decir, que en una habitación fría o en un medio ácido de solución desinfectante pierda actividad y su acción sea más lenta

Compuestos inorgánicos

Las sustancias inorgánicas suelen tener efectos sobre las bacterias por la disolución de sus iones o su efecto oxidante. Los compuestos inorgánicos se pueden clasificar en 4

Tabla 11-4. Principales agentes químicos que actúan sobre las bacterias

Inorgánicos
- Acidos y álcalis
- Sales minerales
  - De mercurio [mercurocromo, mertiolato, etc.], plata, cobre, etc.
- Oxidantes
  - Halógenos
    - Cloro y derivados
      - Lejía, hipocloritos, cloraminas, etc.
    - Yodo y derivados
  - Otros
    - Agua oxigenada
    - Permanganato potásico, etc.

Orgánicos
- Alcoholes
  - Etílico, isopropílico, benzílico, etc.
  - Glicoles, etilenglicol (óxido de etileno)
- Fenoles
  - Fenol, timol
  - Derivados monofenólicos
    - Cresoles
    - Hexilresorcinol
  - Derivados bifenólicos
    - Hexaclorofeno
- Biguanidinas
  - Clorhexidina
- Aldehídos
  - Formaldehído
  - Glutaraldehído
- Colorantes
  - Violeta de genciana, azul de metileno, etc.
- Agentes tensioactivos
  - Aniónicos
    - Jabones, estearato de sodio
    - Sulfatos de alquilo: lauril-sulfato sódico
  - Catiónicos: derivados del amonio cuaternario
    - Cloruros de alquil-(cetil)-dimetil-bencil-amonio
    - Bromuro de cetil-trimetil-amonio
    - Cloruro de bencetonio
    - Cloruro de cetil-piridina
    - Metilsulfato de (p-tolil)duocetil-trimetil-amonio
    - Metilsulfato de óleo-amino-etil-dietil-metil-amonio
  - Anfóteros
  - No iónicos

grandes grupos: ácidos y álcalis, sales minerales, halógenos y otros oxidantes.

Acidos y álcalis

El efecto sobre las bacterias está en relación directa con su grado de disociación; los ácidos y álcalis muy disociados ejercen un poder bactericida muy intenso. En lo que respecta a los ácidos, es totalmente cierto para los minerales y no así para los orgánicos, que deben su efecto antibacteriano a toda la molécula; algunos ácidos, como el nítrico, deben parte de su poder al anión.

Los álcalis de los metales alcalinos monovalentes deben en general su poder desinfectante a su grado de disociación; no así los alcalinos-térreos, en los que el ion metálico desarrolla un efecto evidente.

Casi todas las bacterias pueden crecer entre variaciones del pH de 4 a 9, pero hay algunas que pueden hacerlo a pH extraordinariamente ácido, como los *Thiobacillus*, que crecen en presencia de sulfúrico N/10 o los *Lactobacillus*, que, sin llegar a estos extremos, crecen en medio ácido; otras, por el contrario, lo hacen en medio alcalino, como los vibriones.

Sales minerales

Las bacterias pueden vivir en concentraciones de sales muy variables de unas especies a otras. Aunque muchas de ellas superviven en agua destilada, la concentración de sal en la que generalmente se desarrollan es del 8,5 ‰; el bacilo tuberculoso inhibe su crecimiento a concentraciones del 2 % de sal, mientras que hay bacterias halófilas que crecen perfectamente en presencia de un 10 ó 12 % de cloruro sódico.

Las sales de los metales pesados pueden tener un efecto bactericida; de ellas, las que más intenso lo tienen son las sales de plata y de mercurio, que son efectivas a concentraciones de 1 parte por millón; se debe esto a que las células captan concentraciones superiores a las que hay en el medio ambiente.

El nitrato de plata y algunas sales orgánicas, como el argirol y colargol, son buenos bactericidas y se pueden usar a concentraciones adecuadas sobre mucosas; sobre todo, se han empleado en la profilaxis de la oftalmía purulenta del recién nacido.

Los compuestos mercuriales tienen una extraordinaria acción antibacteriana por combinarse con los grupos sulfhidrilos de las bacterias; esto lo demuestra el hecho de que el efecto tóxico es neutralizado por la adición al medio de sustancias ricas en enlaces SH_2. De las sales usadas antiguamente, como el sublimado corrosivo, en el momento actual no queda ninguna en uso. Hoy son más utilizados los *derivados orgánicos*, como el mercurocromo, el merfén o el mertiolato, que no son tóxicos y siguen siendo activos en presencia de materia orgánica; se usan en el momento actual como desinfectantes de la piel y conservantes de productos biológicos.

Oxidantes

Halógenos. Los compuestos halogenados tienen un efecto bactericida, en general, por su efecto oxidante; de ellos, los más usados en la práctica son el yodo y sus compuestos, y el cloro y sus derivados.

El yodo se puede usar en forma de tintura de yodo, solución alcohólica al 10 %, que debe su efecto a que el yodo se combina con las proteínas, aparte el efecto oxidante; es muy empleada para la desinfección de la piel. Hoy se emplea el yodo en soluciones acuosas o combinado con detergentes o sustancias orgánicas: los llamados yodóforos, povidona yodada; esta última se usa en la piel por constituir una especie de manto no irritante y de gran poder bactericida.

El cloro tiene efectos bactericidas en muchos de sus compuestos; los más usados en la práctica son el cloro gaseoso, el bióxido de cloro, los hipocloritos, la lejía y las cloraminas. Todos los compuestos de cloro actúan, por una parte, produciendo oxígeno y, por otra, combinándose el cloro con las proteínas bacterianas. La mayor parte de las bacterias son sensibles al cloro a concentraciones inferiores a 1 parte por millón; su actividad es dificultada por la presencia de materia orgánica. El cloro y sus compuestos son muy usados en la potabilización del agua: en los grandes abastecimientos en forma de cloro gas, y en los pequeños como hipocloritos y lejías.

Otros oxidantes. Aunque los halógenos deben en gran parte su efecto como desinfectantes a su acción oxidante, existen otros compuestos considerados exclusivamente como oxidantes, entre los cuales los principales son: el agua oxigenada, de efectos fugaces, por ser descompuesta rápidamente por la catalasa de los tejidos, el permanganato potásico, los perboratos, los persulfatos y los peróxidos metálicos, agentes que matan rápidamente las bacterias. Son poco usados.

Compuestos orgánicos

Son muy variados los compuestos orgánicos que tienen efecto sobre las bacterias; entre los más importantes están los alcoholes, fenoles, aldehídos, colorantes y detergentes.

Alcoholes

El alcohol etílico tiene poder deshidratante y efecto desnaturalizante sobre las proteínas bacterianas. El alcohol absoluto tiene un poder bactericida casi nulo y el alcohol de 60 a 80°, que es el más efectivo, resulta un desinfectante débil. El alcohol isopropílico es más activo, pero más tóxico. En el momento actual, cada vez se tiende a usar menos el alcohol por su efecto deshidratante sobre la piel y escaso poder sobre las bacterias.

Fenoles

El fenol es un potente desinfectante que mata en algunas horas casi todas las bacterias a concentraciones del 2-5 ‰; es menos activo frente a esporos, hongos y virus. En la práctica, por su toxicidad y olor, se usa poco; sólo se utiliza en la valoración de antisépticos por el método del coeficiente fenólico y en forma de ácido fénico en la conservación de sueros y vacunas.

Los derivados fenólicos más activos son los bifenólicos, de escasa toxicidad, si bien está prohibido su uso sobre mu-

cosas; son muy activos frente a bacterias y hongos. Entre ellos destaca el hexaclorofeno, que es muy activo en solución jabonosa y a pH 6.

Los derivados metilados del fenol son los cresoles, de los que existen tres derivados: el orto, meta y para-cresol; son cuerpos poco solubles en agua, pero uniéndolos a jabones y lejías se obtienen emulsiones densas y estables, que son la base de los productos usados en la práctica: lisol, zotal, etc. Son buenos desinfectantes y desodorantes.

Biguanidinas. A este grupo de los fenoles pertenecen la clorohexidina y el cloroxilenol, que son muy activos a concentraciones del 1 %. La clorohexidina en solución alcohólica al 1 % actúa muy rápidamente (en segundos) y tiene una acción residual persistente. Resulta adecuada para prevenir infecciones hospitalarias y lavado de superficies cutáneas, y sus mayores ventajas son el no irritar los tejidos a concentraciones usuales y la gran potencia antibacteriana.

Por ser actualmente muy utilizado en hospitales, clínicas médicas o quirúrgicas, mencionaremos los preparados a base de digluconato de clorhexidina que es el 1'6-di-(4-clorofenildiguanido)-hexano, el cual se emplea en forma de soluciones acuosas o alcohólicas o se asocia a detergentes no iónicos (especialmente para el lavado de manos) o con un compuesto de amonio cuaternario, que es el bromuro de tetradecil-trimetil-amonio, para aumentar el poder detergente del antiséptico.

Si la clorhexidina en concentraciones bacteriostáticas lesiona la membrana bacteriana y consigue una inhibición enzimática y pérdida irreversible de constituyentes citoplásmicos en concentraciones mayores tiene una rápida acción bactericida, y la célula permanece íntegra, pero presenta protrusiones en su superficie; el citoplasma se coagula y los ácidos nucleicos y las proteínas celulares precipitan. Impide la formación de esporos, pero no los destruye, y el *M. tuberculosis* no muere en las soluciones acuosas, pero es inhibido.

Aldehídos

Dos son los más utilizados: el formol o aldehído fórmico, conocido de tiempo antiguo, y el más recientemente empleado aldehído glutárico o glutaraldehído.

El aldehído fórmico o metanal es un extraordinario desinfectante que actúa coagulando las proteínas bacterianas. El formol es un gas fácilmente soluble en agua y se utiliza en la práctica disuelto en ésta al 40 %; esta solución, llamada formalina, es muy activa frente a bacterias, esporos y virus, y es uno de los mejores productos que se pueden usar en desinfección y esterilización hospitalaria (tabla 11-5). Se emplea asimismo para inactivación de suspensiones bacterianas y en la preparación de toxoides.

Tabla 11-5. Métodos seguros de esterilización*

Calor seco (170 °C, 130 min)
Calor húmedo (120 °C, 20-15 min)
Radiaciones ionizantes
Oxido de etileno
Cámaras de formol
Aldehído glutárico

*En todos los casos deben usarse técnicas de control.

El glutaraldehído activado con sales de estaño y a un pH alcalino es esterilizante, pues no sólo destruye las formas vegetativas de las bacterias, sino también los esporos y los virus, como los de la poliomielitis y hepatitis, y se emplea en soluciones al 2 %, en las cuales se sumerge el material que se quiere esterilizar bien limpio (generalmente el de caucho o plástico o instrumentos para cirugía de especialidades de oftalmología u otorrinolaringología, para endoscopia, etc., que no pueden ser esterilizados por el calor).

Colorantes

Ciertos colorantes, como el azul de metileno, verde malaquita, verde brillante, etc., tienen una acción selectiva bacteriostática o bactericida, según la concentración, por lo que se usan en la preparación de medios de cultivo selectivo. Su acción bacteriostática se debe a la modificación del potencial óxido-reductor del medio, lo que inhibe el desarrollo de las bacterias. En general, las bacterias grampositivas son inhibidas más intensamente por este grupo de sustancias bacteriostáticas; por ello se añaden a los medios de cultivo para bacilos gramnegativos, con el fin de evitar las interferencias por los grampositivos.

Detergentes

Por la tensión superficial, las gotas de un líquido tienden a ser redondas; si aquélla es alta, permanecerán como gotitas redondeadas y, si es baja, se extienden sobre la superficie formando una fina película. Para la desinfección química, los líquidos deben tener tensión superficial baja para que se extiendan por una mayor área y puedan ponerse en contacto más íntimamente con las células; los líquidos de baja tensión superficial muy humedecedores se consiguen con los productos químicos *surfactantes, tensioactivos* o *de superficie*, que, cuando se disuelven en el agua, reducen la tensión superficial y se concentran en la superficie de las células más que en la solución; son el jabón, que contribuye a la limpieza separando partículas contaminantes de una superficie y rompiendo las películas de grasa en pequeñas gotas, y los detergentes sintéticos, en su mayoría con un derivado lineal del petróleo sulfonado en los aniónicos y los catiónicos, que son una mezcla de clorhidratos alquílicos del dimetilbencilamonio.

Los agentes tensioactivos están caracterizados por tener un grupo hidrófilo y otro lipófilo, lo que les da la propiedad de disminuir la tensión superficial de las sustancias sobre las que actúan. Según el signo de la carga eléctrica se dividen en aniónicos y catiónicos. Los aniónicos son los jabones, que tienen acción detergente de limpieza, pero cuyo poder bacteriostático es escaso o nulo; dicha acción se puede incrementar añadiéndoles desinfectantes como el hexaclorofeno u otras sustancias tensioactivas, como el laurilsulfato. Tienen la propiedad de neutralizar el efecto bacteriostático o bactericida de los detergentes catiónicos; de ahí la importancia de eliminar todo resto de jabón antes de hacer actuar un detergente catiónico.

Los detergentes catiónicos son derivados, halogenados o no, de amonio cuaternario, que penetran fácilmente por las superficies, tienen un gran poder bacteriostático y son desodorantes; su coeficiente fenólico es, por término medio, de

12 frente al *Staphylococcus aureus*, de 10 frente a bacilos gramnegativos y de 5 frente a *Pseudomonas* y *Proteus* (aunque algunas de estas bacterias en soluciones acuosas se vuelven resistentes). Se usan a concentraciones entre el 1 % y el 1 ‰, según la carga bacteriana sobre la que tienen que actuar.

Desinfectantes gaseosos

Además del *formol*, usado en forma gaseosa y en cámaras cerradas como desinfectante, existen una serie de sustancias, que en estado gaseoso son muy activas frente a los microorganismos; entre ellas las más importantes son:

Oxido de etileno. Es una sustancia muy penetrante y activa frente a bacterias, hongos y virus; es un gas tóxico y explosivo, por lo que hay que emplearlo con determinadas precauciones. Se debe utilizar en una cámara cerrada, con un grado de humedad previo del 40 al 60 %, mezclado con anhídrido carbónico en proporción de un 5 % de óxido de etileno, y la temperatura de aplicación es de 20 a 45 °C, por lo que se llama esterilización en frío; el tiempo que se requiere mantener un objeto en la cámara de etileno para esterilizarlo es de 3 a 12 horas. Se emplea en la desinfección de aquellos objetos que se estropean por el calor o las sustancias químicas, como colchones, mantas o plásticos. Actúa porque en contacto con el agua forma etilenglicol de acción microbicida (tabla 11-5).

Betapropiolactona. Es muy activa frente a bacterias, esporos y virus con un 75 % de humedad; es irritante para la piel y mucosas, y tóxica por inhalación. Es muy poco penetrante, por lo que sólo se emplea sobre superficies, y por su acción cancerígena ha dejado de utilizarse.

Glicoles. De los derivados glicólicos, los más usados son el propilenglicol y el etilenglicol; se aplican por medio de unos dispositivos especiales llamados glicostatos o, lo que es más frecuente, en forma de aerosoles para desinfección de ambientes.

En la tabla 11-6 se recogen las características, propiedades y aplicaciones principales de los desinfectantes químicos más usados.

Asociaciones de desinfectantes

La tendencia actual es la asociación de desinfectantes clásicos o modernos con agentes activos de superficie, que, al disminuir la tensión superficial y por su acción de limpieza, favorecen la penetración a través de la membrana celular, o bien se trata de asociaciones intermoleculares de dos o varios desinfectantes para obtener otros más enérgicos y rápidos de actuación.

Así, por ejemplo, como hemos repetido, se asocian detergentes catiónicos o aniónicos con yodo o clorhexidina o bien aldehídos alifáticos, sales de amonio cuaternario y sa-

Tabla 11-6. Características y propiedades de los agentes químicos más usados

	Espectro										
	Gram +	Gram −	*Myco*	Esporos	Virus	Acción	Acción residual	Acción mojante	Inactivación	Toxicidad	Aplicaciones
Alcoholes	+	+	+	−	−	B	No	No	Débil	No	Piel
Aldehídos Formol Glutaraldehído	+	+	+	+	+	B	No	No	Débil	Sí	Desinfección ambiental
Halógenos Cloro y derivados	+	+	+	+	+	B	No	No	Débil	Sí	Desinfección ambiental (alimentos, ropa, etc.)
Yodo y derivados	+	+	+	+	+	B	Sí	Sí	Débil	No	Antisepsia
Fenoles	+	+	±	±		B	No	Sí	Débil	Sí	Desinfección ambiental
Bifenoles (hexaclorofeno)	+	±	−	−		b	Sí	Sí	Moderada	±	Desinfección ambiental (restringida, no a diario)
Biguanidinas (clorhexidina)	+	±	−	−		b	No	Sí	Intensa	No	Desinfección ambiental Antisepsia
Detergentes de amonio cuaternario	+	±	−	−		b	No	Sí	Intensa	No	Antiséptica (asociados)
Anfolitos	+	±	−	−		b	No	Sí	Intensa	No	−
Sales de metales pesados	+	−	−	−		b	No	No		±	−

Myco = *Mycobacterium*.
B = Acción microbicida.
b = Acción bacteriostática.

Tabla 11-7. Clasificación de los métodos químicos de desinfección

Gaseosos o en vapor
Formol
Oxido de etileno (etilenglicol)
β-Propiolactona
Glicoles
Trietilenglicol
Propilenglicol
Ozono
Feniloxibenzoato-hexilresorcinol
Soluciones clásicas poco utilizadas
Acido fénico
Cloruro mercúrico
Oxicianuro de mercurio
Timol
Acido bórico
Permanganato potásico
Lechada de cal
Clásicos utilizados
Formol (aldehído fórmico)
Agua oxigenada
Clorógenos
Hipocloritos (lejías caseras)
Cloraminas
Cloro gaseoso
Alcohol de 70°, alcohol isopropílico
Tintura de yodo
Cresol y derivados (zotal, etc.)
Desinfectantes más modernos
Mercuriales orgánicos
Detergentes catiónicos derivados del amonio cuaternario
Detergentes anfolíticos o anfóteros
Hexaclorofeno
Clorhexidina
Glutaraldehído activado
Yodóforos
Con detergentes aniónicos
Con detergentes catiónicos
Con polivinil-pirrolidona
Acido paracético
Asociaciones intermoleculares o no de desinfectantes para reforzar su acción:
Asociación de mercuriales orgánicos con detergentes aniónicos y fenoles
Asociación de los detergentes anfolíticos con formaldehído y fenol o con difenoles y formol
Asociación de detergentes catiónicos con aldehidoglutárico y tributil-benzoato de estaño
Materiales autodesinfectantes
Lacas y barnices (silicatos con cloraminas, hexilresorcinas, etc.)
Celulosas de tejidos con hexaclorofeno, cloruro de cetilpiridina, etc.
Caucho con tetraclorofenol y oxidifenol

Tomado de Piédrola Gil y Piédrola-Angulo (1983).

les organometálicas, terpenos aromáticos y aminas activadas o mercurobutol, éter sulfúrico, acetato de etilo y laurilsulfato sódico, etc. (tabla 11-7).

MECANISMO DE ACCION

El efecto desfavorable de los agentes físicos y químicos sobre las bacterias se debe a mecanismos muy variados y no del todo conocidos. Por su intensidad, cualquier agente se puede clasificar en bacteriostático, cuando impide su multiplicación (como es reversible, cuando cesa la causa se multiplica de nuevo), o bactericida, si el efecto es mortal e irreversible. No siempre ambos mecanismos son diferentes; la mayor parte de las veces, el que se alcance uno u otro efecto depende de la intensidad con la que se aplique el agente.

Según el mecanismo de acción y la estructura bacteriana sobre la que actúen, los agentes físicos y químicos se clasifican en tres grandes grupos, aunque algunos actúen por varios mecanismos simultáneamente (fig. 11-3):

Agentes que actúan sobre la membrana citoplásmica y la pared celular

Existen sustancias que alteran el complejo parietal de la bacteria o dificultan su síntesis, como la lisozima; otras se combinan con los lípidos de la membrana y alteran sus mecanismos de transporte activo o su acción como barrera osmótica entre la bacteria y el medio externo: es el caso de los ácidos y álcalis en su acción corrosiva y de los detergentes de acción microbicida, por su combinación con las lipoproteínas. El hexaclorofeno inhibe la cadena transportadora de electrones de la membrana citoplásmica.

Agentes que actúan sobre las proteínas y enzimas

El efecto es múltiple:

1. Coagulación y desnaturalización de las proteínas, con lo que el coloide citoplásmico queda alterado y los sistemas enzimáticos, inactivados. Este es el mecanismo de acción de las sales de metales pesados, calor, fenol y alcohol.
2. Efecto tóxico sobre las enzimas, debido a la oxidación de sus radicales libres, o efecto alquilante sobre éstos. Las enzimas inactivadas son fundamentalmente las que intervienen en los sistemas respiratorios. Así, actúan el cloro, el agua oxigenada, el permanganato y el óxido de etileno.
3. Formación de compuestos con los radicales libres, como el mercurio y los clorógenos con los grupos sulfhidrilo, y el formol, glutaraldehído y óxido de etileno con los grupos amino y oxidrilo.

Agentes que actúan por alteración del núcleo

Algunos agentes tienen una especial tendencia a alterar el núcleo y los genes de las bacterias por combinarse con los grupos sulfhidrilos, las nucleoproteínas, como el formol, agentes alquilantes, o por interferencia en la replicación del ADN, como ocurre con las radiaciones.

Como se deduce de lo expuesto, un mismo agente puede tener distintos mecanismos de acción sobre diferentes estructuras de los microorganismos, como, por ejemplo, el fenol y las sales de los metales pesados, que actúan sobre las proteínas citoplásmicas y nucleares. En muchas ocasiones no sabemos con exactitud cuál es el mecanismo íntimo por el que una sustancia produce la muerte bacteriana y, en otras, asociamos dos o más para sinergizar o adicionar sus acciones.

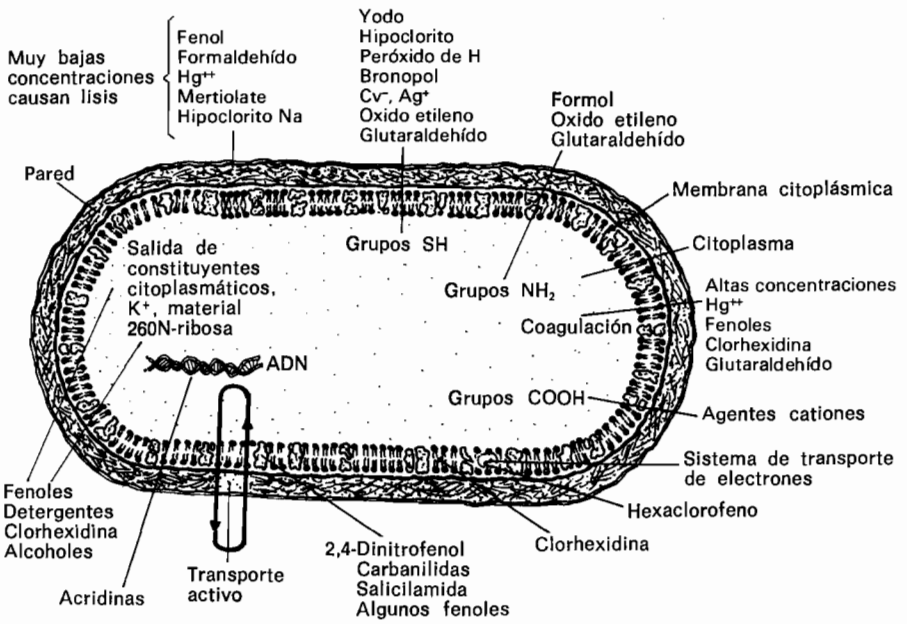


Fig. 11-3. Diagrama que muestra los puntos diana para la acción de los principales desinfectantes. (Tomado de W. B. Hugo, 1984.)

VALORACION DE DESINFECTANTES

La valoración del poder antibacteriano de un desinfectante químico puede efectuarse determinando su poder bacteriostático o bactericida (tabla 11-8). El primero se obtiene mediante el coeficiente de inhibición (CMI), es decir, determinando la concentración mínima de dicha sustancia capaz de inhibir el crecimiento y reproducción de una determinada bacteria. El poder bactericida o concentración mínima bactericida (CMB) se determina calculando la cantidad mínima de dicha sustancia capaz de producir la muerte de una suspensión patrón en un tiempo determinado; si se trata de formas vegetativas, obtenemos el coeficiente letal mínimo y, si son bacterias esporuladas, el coeficiente letal máximo.

La determinación de la actividad bacteriostática se realiza por el estudio de la CMI, mediante una serie de diluciones decrecientes del desinfectante en caldo nutriente, e inoculando los tubos con una suspensión bacteriana. Tras la incubación a 37 °C durante 24 horas se observa cuál es la mínima concentración del producto que inhibe el crecimiento.

Los tests de suspensiones se basan en añadir a la solución del desinfectante una determinada cantidad de bacterias y, después de cierto tiempo preestablecido, sembrarlo en un medio para comprobar si hay o no crecimiento (métodos cualitativos) o determinar el efecto bactericida mediante la expresión logarítmica de la relación entre el número inicial de bacterias y el de supervivientes (métodos cuantitativos). Entre los primeros se encuentra el test de la Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM), en el que se añade al desinfectante un cultivo de bacterias estándar, determinando, después de 2,5, 5, 15 y 30 minutos de contacto a temperatura ambiente, el crecimiento producido. El método de Rideal-Walker compara la eficacia del desinfectante con la del fenol, mediante diluciones en tubo de ambos y determinando la dilución que es capaz de matar una cepa bacteriana en 7,5 minutos y no en 5 minutos, tras el cultivo a 37 °C durante 48 horas; si el coeficiente letal del fenol es, por ejemplo, de 1/80 y el de la sustancia problema, de 1/240, el coeficiente fenólico será de 240/80 = 3. El método de Chick y Martin es similar a éste, pero en presencia de materia orgánica, durante un tiempo constante.

Tabla 11-8. Métodos de valoración de antisépticos y desinfectantes

Métodos de valoración *in vitro*
Medida de la actividad bacteriostática
CMI en medio líquido
Tests de suspensiones
Cualitativos
Test de la DGHM
Coeficiente fenólico de Rideal-Walker
Método de Chick-Martin
Cuantitativos
Test del Committee on Phytopharmacy
Test de Reybrouck-Werner
Método de dilución-neutralización (AFNOR T 72-150)
Método de filtración por membranas (AFNOR T 72-151)
Micrométodo para la CMB
Difusión en agar
Métodos para el estudio de la actividad fungicida (AFNOR T 72-200)
Métodos para el estudio de la actividad esporicida (AFNOR T 72-230)
Métodos para el estudio de la actividad viricida (Beytout)
Tests de capacidad
Test de Kelsey-Sykes
Test de capacidad de Bergan-Lystad
Test de Dony-Devleeschouwer
Tests de transportadores
Método de dilución al uso de la AOAC
Tests prácticos
Test de desinfección de superficies
Test de portagérmenes (AFNOR T 72-190)
Test *in vivo*
Tests en uso
Test de Kelsey-Maurer

Modificado de Reybrouck, 1982.

Los tests cuantitativos tratan de determinar la reducción del 99,9 % de las bacterias, en unas condiciones determinadas de tiempo y temperatura, y en presencia o no de sustancias interferentes. Para determinar la tasa de reducción decimal (relación logarítmica entre el número de bacterias inicial y el de supervivientes) es necesaria la neutralización previa de la actividad bacteriostática residual, lo que se consigue normalmente por la neutralización con sustancias químicas (Tween 80, yema de huevo, lecitina, etc.), específicas para cada desinfectante. El Committee on Phytopharmacy de los Países Bajos propone un método conocido como 5-5-5, porque utiliza 5 bacterias, el período de desinfección es de 5 minutos y se busca una tasa de reducción decimal de 5. Más útil es el método de Reybrouck-Werner, que consiste en añadir 0,1 ml de la suspensión bacteriana a 10 ml de una solución de desinfectante en agua bidestilada; después de 5, 10 y 20 minutos de exposición a 25 °C, 1 ml de la mezcla se adiciona a 9 ml de neutralizante y tras 30 minutos a temperatura ambiente se siembran cuatro diluciones decimales en agar-tripticasa. El efecto germicida se obtiene restando al logaritmo del número de unidades formadoras de colonias del control el de las obtenidas tras el tratamiento. La Asociación Francesa de Normalización (AFNOR) ha propuesto diversos métodos como los de dilución-neutralización, que consta de dos ensayos, uno preliminar para conocer el neutralizante idóneo y otro definitivo, en el que se determina la mayor dilución del desinfectante con la que se consigue una disminución del crecimiento a la décima parte. También existe un micrométodo, de gran interés en los casos de sustancias no neutralizables. El método de difusión en agar, similar al disco-placa utilizado para los antibiogramas, es bueno si se estandarizan todos los parámetros; permite deducir la actividad bactericida a partir de los diámetros de inhibición (desinfectograma). Existen tests cuantitativos especiales para la determinación de la actividad fungicida, esporicida y viricida de los antisépticos y desinfectantes.

Los tests de capacidad sirven para determinar si un compuesto conserva su actividad después de realizar varias adiciones de suspensiones bacterianas. Pueden determinar la presencia o ausencia de crecimiento (test de Kelsey-Sykes, o su modificación de Bergan-Lystad) o realizar un recuento de las bacterias supervivientes (test de Dony-Devleeschower).

Los tests de transportadores se basan en la introducción de uno de éstos (cilindros de acero y porcelana, tubos de vidrio, portaobjetos, algodón, papel de filtro) en una suspensión bacteriana y, una vez secados, sumergirlos en la solución del desinfectante; tras un período de contacto, el transportador es transferido a un medio de subcultivo. El más utilizado es el método de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) de Estados Unidos.

Los tests prácticos, difícilmente estandarizables, se utilizan para verificar si una dilución en uso, que previamente se ha estudiado *in vitro*, es adecuada o no. En cada caso, se va a utilizar un transportador apropiado, y pueden ser métodos semicuantitativos (test de desinfección de superficies y su variante del método portagérmenes) o usarse para el control de la desinfección de manos y piel (test *in vivo*).

El test en uso, cuyo prototipo es el de Kelsey-Maurer, intenta la comprobación de la eficacia del desinfectante en las condiciones reales de uso. Comprueba la observación o no del crecimiento de colonias tras la siembra en placas de agar de una dilución al 1/10 del producto en cuestión (figura 11-4).

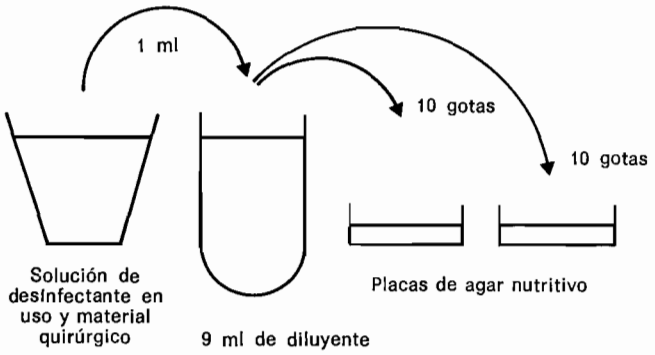


Fig. 11-4. Test de Kelsey-Maurer. Las placas serán incubadas, una 3 días a 37 °C y otra 7 días a temperatura ambiente. El crecimiento de 5 ó más colonias hace sospechar que la desinfección no ha sido buena.

Las bacterias más utilizadas para los diferentes métodos de valoración de desinfectantes suelen pertenecer a colecciones internacionales y son las más usuales en el medio ambiente: *S. aureus, E. coli, P. vulgaris, P. aeruginosa, S. faecalis*, etc.

Resistencia a los desinfectantes

La sensibilidad mayor o menor de las distintas bacterias a los compuestos químicos varía según el mecanismo de acción de éstos. La pared celular, más compleja, de los gramnegativos explicaría su mayor resistencia a los desinfectantes. La especial resistencia de *P. aeruginosa* parece deberse a su pared celular, estabilizada por iones Mg^{++}. El alto contenido en ceras y la naturaleza hidrofóbica de la pared celular explican también la resistencia del género *Mycobacterium*.

Al igual que en la resistencia a los antibióticos, las bacterias pueden adaptarse frente a un compuesto químico (variación fenotípica) o seleccionarse espontáneamente mutantes resistentes (resistencia genotípica). La aparición de mutantes, en número de 1 por 10^5 a 10^7 células, puede conseguirse artificialmente en el laboratorio, trabajando con bacterias y concentraciones conocidas, o aparecer espontáneamente en un centro hospitalario.

Plásmidos transferibles por conjugación o transducción, aislados en *E. coli* y *P. aeruginosa*, determinan la resistencia al mercurio, cobalto, níquel, cadmio, arsénico, cromo, boro y plata, junto a ciertos antibióticos del tipo de los β-lactámicos. También se han descrito resistencias a los derivados de estos metales, como compuestos organomercuriales, sales de mercurio y nitrato de plata. Por el contrario, se han descrito plásmidos que confieren una sensibilidad aumentada al cloruro de mercurio. Existe poca información de las resistencias a otros desinfectantes, si bien los resultados obtenidos por diferentes autores parecen sugerir que, con la excepción del hexaclorofeno, los plásmidos desempeñan un papel poco importante en la resistencia a aquellos compuestos.

Las consecuencias de estos hechos en el uso de sustancias germicidas en los hospitales son patentes; de ahí la necesidad de determinar el valor de los desinfectantes en

cada centro sanitario, según las técnicas que antes hemos descrito.

BIBLIOGRAFIA

Association Française de Normalisation, AFNOR: Recueil de normes françaises des antiseptiques et désinfectants, 1.ª ed. Paris, 1981.

Alvarez, A.; Rodríguez, R.; Marín, A., y Cueto, A.: Métodos de valoración de antisépticos y desinfectantes. I. Métodos de valoración *in vitro* no cuantitativos, tests prácticos y tests en uso. Laboratorio, 74, 529-545, 1983.

Alvarez, A.; Espigares, M.; Rodríguez, R.; Fernández-Crehuet, J., y Cueto, A.: Métodos de valoración de antisépticos y desinfectantes. II. Métodos de valoración *in vitro* cuantitativos, tests de capacidad y tests de transportadores. Laboratorio, 74, 89-123, 1983.

Bidou, D. B., y Grupillo, J. C.: Fundamentos y técnicas de esterilización. Panamericana, Buenos Aires, 1977.

Block, S. S.: Disinfection, Sterilisation and Preservation, 2.ª ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1977.

Collins, C. N.; Allwood, M. C.; Blommfield, S. F., y Fox, A.: Disinfectants. Their use and evaluation of efectiveness. Academic Press, London, 1981.

Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie: Richtlinien für die Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren. Fischer, Stuttgart, 1981.

Foster, T. J.: Plasmid-determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria. Microbiol. Rev., 47, 361-409, 1983.

Gilbert, P.: Resistencia no plasmídica a desinfectantes y antisépticos. Laboratorio, 78, 95-131, 1984.

Hugo, W. B.: El mecanismo de acción de los desinfectantes. Laboratorio, 78, 87-94, 1984.

Lowbury, E. J. L.; Ayliffe, G. A. J.; Geddes, A. M., y Williams, J. D.: Control of Hospital Infection: a practical handbook. Chapman & Hall, London, 1975.

Maurer, I. M.: Hospital Higiene. Edward Arnold, London, 1974.

Piédrola-Angulo, G.; Domínguez, V., y Cueto, A.: Desinfectantes, utilización y métodos. Rev. San. Hig. Pub., 52, 341-394, 1978.

Piédrola Gil, G., y Piédrola-Angulo, G.: Desinfección y esterilización. Métodos y técnicas. En Medicina Preventiva, Higiene y Sanidad, 7.ª ed., 351-381. Amaro, Madrid, 1983.

Reybrouck, G.: Medida de la actividad germicida de los desinfectantes y antisépticos por pruebas de suspensión cuantitativas. Laboratorio, 78, 183-206, 1984.

Russell, A. D.: Resistencia determinada por plásmidos a los antisépticos y desinfectantes. Laboratorio, 78, 133-151, 1984.

Russell, A. D.; Hugo, W. B., y Ayliffe, G. A. J.: Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilisation. Blackwell, Oxford, 1982.

Capítulo 12

Antimicrobianos

José Angel García-Rodríguez

Se inicia con este capítulo el estudio de las principales armas de que dispone el médico para la lucha contra la infección, tratando de los compuestos químicos con acción antimicrobiana que son producidos por microorganismos vivos (antibióticos) u obtenidos por síntesis química (quimioterápicos), si bien la tendencia actual es la de agruparlos bajo el título de «agentes antimicrobianos».

HISTORIA

La observación de fenómenos de antibiosis se remonta a fines del siglo pasado, en que Pasteur y Joubert, entre otros, observaron que los cultivos de una bacteria patógena se podían inhibir con el desarrollo de otros microorganismos. Estas observaciones permitieron sugerir que ciertos microorganismos eran capaces de secretar sustancias inhibidoras del desarrollo de otros microorganismos, fenómenos a los que Vuillemin y Ward dieron el nombre de antagonismo vital o de «antibiosis». Sin embargo, al no encontrar una aplicación práctica, pronto fueron olvidados.

Por otra parte, la administración de sustancias químicas (quimioterápicos) por métodos empíricos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas y parasitarias era ya conocida desde antiguo, como el empleo de la corteza de quina en el tratamiento del paludismo. Pero ya en este siglo, los éxitos obtenidos con los antisépticos estimularon el intento de aislar sustancias antimicrobianas sin toxicidad para el organismo humano o en que ésta fuera muy pequeña. Después de gran número de ensayos se llegó al descubrimiento de los mercuriales y arsenicales, seguido después del de los antimoniales y antipalúdicos de síntesis. En 1935, Domagk, al estudiar los colorantes dotados de acción antimicrobiana, descubre el Prontosil, cuyo núcleo activo, p-aminobencenosulfonamida, por sustitución de diversos radicales, ha dado lugar al aislamiento de gran número de compuestos, que hoy conocemos con el nombre de sulfamidas.

En 1928, se produjo la observación de un nuevo fenómeno de antagonismo bacteriano: en un cultivo en placa de estafilococos patógenos, donde se había producido la contaminación por un hongo procedente del aire (*Penicillium notatum*), Fleming observa que el desarrollo de una colonia del hongo había inhibido el crecimiento del estafilococo a su alrededor. La observación de Fleming determinó que años más tarde, a partir de cultivos de este hongo, el grupo de Oxford (Florey, Chain, Heatley, etc.) aislara el primer antibiótico conocido, la penicilina.

El hecho de que el esporo del hongo que había contaminado por vía aérea el cultivo de estafilococos proviniera del suelo hizo que, en las décadas siguientes, la mayoría de investigadores se dedicaran al estudio de los microorganismos del suelo, para el aislamiento de especies microbianas productoras de antibióticos, lo que dio lugar al descubrimiento de la tirotricina, en 1939, por Dubos, de la estreptomicina, en 1943, por Waksman (después del estudio de más de 10.000 microorganismos del suelo) y de la terramicina, en 1950, analizando más de 100.000 microorganismos aislados de muestras de tierra enviadas de todo el mundo. En el momento actual se han aislado varios centenares de antibióticos, de los cuales aproximadamente 100 son de utilidad clínica.

DEFINICION

El término «antibiótico» se utilizó siempre para conceptuar todas las sustancias orgánicas producidas por microorganismos, que fueran capaces de actuar sobre otros microorganismos inhibiendo su crecimiento o destruyéndolos. Este concepto queda restringido desde que Waksman y cols. (1941) proponen que las citadas sustancias para ser consideradas «antibióticos» deben cumplir las siguientes condiciones:

Especificidad

Se traduce en el denominado espectro de acción del antibiótico, consistente en su actuación frente a un grupo determinado y limitado de microorganismos. Este comportamiento se debe a que los antibióticos actúan en un lugar anatómico concreto de la bacteria, que es específico de cada antibiótico. Unos se fijan en una molécula y bloquean su acción, y otros alteran una línea metabólica fundamental para la bacteria. Es el sitio de acción, o «blanco molecular», del antibiótico, cuyo bloqueo o modificación comportan en todo caso cambios metabólicos, trascendentes para la vida del microorganismo.

Elevada potencia biológica

Es decir, que sea activo a pequeñas concentraciones, actividad que suele expresarse como concentración mínima inhibitoria (CMI), equivalente a la más baja concentración de

antibiótico, dada en µg/ml, capaz de inhibir el crecimiento bacteriano.

Este concepto excluye toda una gama de sustancias antibacterianas, que son activas solamente a concentraciones muy elevadas y de muy diversas procedencias (vegetales superiores, reino animal, procesos de fermentación bacteriana o criptogámica, etc.).

Toxicidad selectiva

Es la base que permite la aplicación práctica en medicina. Los antibióticos, cuya toxicidad para las células del organismo humano debe ser mínima, son, sin embargo, tan activos que pueden destruir las bacterias patógenas en el interior del organismo humano (sangre u otros tejidos). Esta es la diferencia fundamental con antisépticos y desinfectantes, que por su toxicidad sólo son aplicables en la superficie de piel y mucosas (antisépticos) o en el medio ambiente (desinfectantes).

Otras condiciones, tales como adecuada farmacocinética que no induzca resistencias, etc., son factores de índole práctica.

Los conceptos vertidos permiten obtener una aproximación a la definición:

«Antibióticos y quimioterápicos son compuestos químicos capaces de inhibir el crecimiento e incluso de destruir determinadas especies microbianas, de forma específica, a bajas concentraciones y sin toxicidad (o muy baja) para el organismo humano.» La diferencia entre unos y otros se ha establecido sobre la base de la forma de obtención. Los antibióticos son producidos por microorganismos vivos y los quimioterápicos se obtienen por síntesis química.

Los avances científicos han venido a alterar estas diferencias, toda vez que un gran número de antibióticos se pueden obtener actualmente de forma sintética o semisintética.

En realidad, la investigación de nuevas sustancias se orienta en dos sentidos:

1. Búsqueda de antimicrobianos por síntesis o aislamiento de microorganismos productores de nuevos antibióticos.
2. Obtención de preparados semisintéticos, introduciendo o sustrayendo radicales químicos en moléculas conocidas. Así, se puede aumentar el espectro y actividad, mejorar la farmacocinética, disminuir la toxicidad, etc.

Por todo ello, hay autores que prefieren utilizar el término antibiótico para englobar todas las sustancias que cumplen los requisitos citados, aunque la tendencia más correcta es la de utilizar el término de agentes antimicrobianos.

CLASIFICACION

El conocimiento y manipulación de los antimicrobianos hace 30 años eran relativamente sencillos por el escaso número de que se disponía en la práctica médica. Pero la carrera de los antimicrobianos ha ampliado el arsenal terapéutico de tal forma que para un correcto conocimiento y utilización es necesario clasificarlos.

Los criterios de clasificación son diversos, lo que origina varias claves que han permitido agruparlos según su origen, estructura química y actividad.

Por su origen

Se pueden dividir en:

Biológicos. Son producidos por microorganismos, lo que permite subdividirlos a su vez en: antimicrobianos elaborados por bacterias típicas (p. ej., polimixinas por *Bacillus polimixa*), actinomicetos (p. ej., cloranfenicol por *S. venezuelae*) y hongos (p. ej., penicilina por *Penicillium notatum*).

Sintéticos. Son producidos exclusivamente por síntesis química. Son ejemplos de ellos los nitrofuranos y las sulfamidas.

Semisintéticos. En la actualidad constituyen el grupo más numeroso e importante. Sobre el núcleo básico del antibiótico, producido por el microorganismo, se engarzan en la posición más adecuada radicales obtenidos por síntesis, confiriendo: mejora del espectro, de la farmacocinética, disminución de la toxicidad, etc.

Por el espectro de acción

En relación con el tipo de microorganismos que inactivan, se clasifican en: antiprotozoarios, antivíricos, antifúngicos y antibacterianos. Estos dos últimos grupos son los que se desarrollarán más ampliamente. Incluso cuando se habla del espectro de los antibacterianos se acostumbra a dividirlos en:

1. *De amplio espectro,* como el cloranfenicol y las tetraciclinas, que interfieren en el crecimiento de numerosas especies bacterianas.
2. *De espectro menos amplio* o intermedio, que actúan frente a un número más limitado de especies (p. ej., penicilinas, macrólidos).
3. *De espectro corto,* que, como las polimixinas, sólo tienen un comportamiento eficaz frente a un número limitado de especies.

Por su forma de actuación

Los antimicrobianos pueden dividirse en:

1. Bacteriostáticos, que bloquean el desarrollo y multiplicación de las bacterias, pero no las lisan, por lo que al retirar el antimicrobiano su efecto es reversible (p. ej., cloranfenicol).
2. Bactericidas (como las β-lactaminas), que provocan la muerte bacteriana, con lo que el proceso es irreversible.

Esta clasificación, aunque sencilla, depende no sólo del antibiótico, sino también de la especie. Por ejemplo, el cloranfenicol puede ser bactericida frente a *Haemophilus* y las cefalosporinas pueden ser bacteriostáticas frente a *Pseudomonas.*

Por el mecanismo de acción

A nivel molecular se dividen en antimicrobianos que actúan en la síntesis de la pared (p. ej., penicilina), en la membrana citoplásmica (polimixina), en la síntesis proteica, por inhibición competitiva, etc.

Por la estructura química

Es la más utilizada y puede introducir otros parámetros para una correcta adecuación clínico-microbiológica.

Sobre la base de su estructura y composición, los antimicrobianos se agrupan en familias que tienen características comunes no sólo químicas, sino también mecanismo de acción y espectro semejantes. Dentro de cada familia pueden separarse subgrupos por matices, como espectro de acción, y estabilidad enzimática, diferenciándose en el grupo sobre todo en base a la tolerancia, farmacocinética, etc.

Las familias y grupos más importantes son:

I. β-*lactámicos:*
   Penicilinas.
   Cefalosporinas.
   Cefamicinas.
   Oxacefeminas.
   Clavaminas.
   Carbapeneminas.
   Monobactámicos.
   Etc.
II. *Aminociclitoles:*
   Espectinomicina.
   Aminoglicósidos.
III. *Polipeptídicos.*
IV. *Tetraciclinas.*
V. *Cloranfenicol y derivados.*
VI. *Macrólidos.*
VII. *Lincosamidas.*
VIII. *Rifamicinas.*
IX. *Fosfomicina.*
X. *Sulfamidas.*
XI. *Nitrofurantoína.*
XII. *Quinolonas.*
XIII. *Derivados nitroheterocíclicos.*
XIV. *Antifúngicos:*
   Poliénicos.
   Griseofulvina.
   Flucitosina (5-fluorocitoxina).
   Derivados imidazólicos.

ACCION DE LOS ANTIBIOTICOS SOBRE LAS BACTERIAS: ESPECTRO TEORICO DE ACCION

Desde un punto de vista muy general y casi exclusivamente con una finalidad docente, ya que existen excepciones, se estudiará, en primer lugar, la acción de cada familia de antibióticos sobre las diversas especies microbianas, es decir, su espectro teórico de acción. Es en realidad un enfoque desde el punto de vista práctico de lo que se ha citado hasta ahora. Por último se considera la acción combinada de dos antibióticos sobre las bacterias.

Acción de los antibióticos sobre las bacterias en general

Según un orden decreciente de actividad, se pueden analizar diversos grupos:

Sobre cocos y bacilos grampositivos y gramnegativos

Son los antibióticos llamados de «amplio espectro», pues actúan sobre la mayoría de especies bacterianas. En este grupo se encuentran el cloranfenicol, las tetraciclinas, betalactaminas de amplio espectro, aminoglicósidos, rifampicina, sulfamidas, cotrimoxazol y nitrofuranos. Los de más amplio espectro son el cloranfenicol y las tetraciclinas, que son activos, además, sobre rickettsias, clamidias y micoplasmas. Algunos presentan acciones específicas: así, el cloranfenicol, que se concentra en el tejido linfático, es el antibiótico de elección para el tratamiento de la fiebre tifoidea.

Sobre cocos y bacilos grampositivos

Son antibióticos de espectro menos amplio, que presentan una acción preferente sobre las bacterias grampositivas, pero que, además, son activos sobre cocos o bacilos gramnegativos.

1. Dentro de los primeros, que actúan sobre cocos y *bacilos grampositivos* y cocos *gramnegativos*, se encuentran algunas betalactaminas, como las penicilinas G y V y el grupo meticilina-oxacilina, así como los macrólidos, lincosamidas y nitrofuranos. El antibiótico principal de este grupo es la penicilina, cuya baja toxicidad y uso indiscriminado han dado lugar a la aparición de microorganismos resistentes a su acción, en especial estafilococos (*S. aureus*), y se emplean para su tratamiento penicilinas semisintéticas resistentes a la penicilinasa, como el grupo meticilina-oxacilina (penicilinas antiestafilocócicas) y macrólidos (eritromicina) y aun lincosamidas. También se pueden emplear antibióticos de amplio espectro, como los aminoglicósidos (gentamicina y amikacina), y antibióticos de corto espectro activos frente a cocos grampositivos (vancomicina, ristocetina, etc.).

Hay que tener en cuenta que los macrólidos, como la eritromicina, son activos, además, frente a rickettsias y micoplasmas.

2. Entre los segundos, activos frente a cocos y *bacilos grampositivos* y *bacilos gramnegativos*, se encuentra la fosfomicina.

Sobre bacilos gramnegativos

Frente a los bacilos gramnegativos aerobios y facultativos (fundamentalmente sobre pseudomonas y enterobacterias) se dispone de algunos antibióticos, en especial los polipéptidos, como la polimixina B y la colistina (polimixina E), así como las quinolonas, que se consideran como antibióticos de corto espectro.

Sobre cocos grampositivos

Se incluyen algunos antibióticos, por lo general de corto espectro, que se emplean en el tratamiento de las infecciones por estafilococos resistentes a la penicilina, como la vancomicina, ristocetina y novobiocina.

Acción combinada de dos antibióticos

La acción simultánea de dos antibióticos sobre una especie bacteriana sensible puede ser:

1. Mayor que la suma de las acciones de cada uno de ellos (acción sinérgica).

2. Igual a la suma (acción aditiva).
3. Igual a la acción del más eficaz (acción indiferente).
4. Menor a la acción del más eficaz (acción antagónica).

En general, el resultado de la acción de dos antibióticos no puede predecirse *a priori*, ya que depende de tres variables (el antibiótico, el medio y el microorganismo), que deben determinarse en cada caso por pruebas de laboratorio.

Sin embargo, existen unas normas generales, enunciadas por Jawetz y Gunnison, y modificadas por Manten y Wise, en 1961:

1. La asociación de dos antibióticos bacteriostáticos generalmente es aditiva.
2. La asociación de dos antibióticos bactericidas suele ser sinérgica.
3. La asociación de un antibiótico bacteriostático con otro bactericida puede ser antagónica.

En la práctica, las asociaciones de β-lactaminas con aminoglicósidos suelen ser sinérgicas, en tanto que con cloranfenicol, tetraciclinas y macrólidos provocan en general antagonismo.

La asociación de dos antibióticos se emplea principalmente en uno de estos casos:

1. Para obtener una acción más intensa sobre una bacteria determinada, en *procesos infecciosos graves y en enfermos comprometidos*, como sucede en las asociaciones de β-lactaminas con aminoglicósidos, eritromicina o vancomicina; para el tratamiento de las sepsis y endocarditis por estafilococos; en la administración de cotrimoxazol (trimetoprim + sulfametoxazol) en el tratamiento de las infecciones por bacilos gramnegativos; en la asociación de gentamicina o tobramicina con carbenicilina o ticarcilina para el tratamiento de las infecciones hospitalarias por gérmenes multirresistentes (*Pseudomonas, Acinetobacter, Proteus*); en la asociación de estreptomicina con tetraciclinas en el tratamiento de la brucelosis, al eliminar las brucelas en situación extracelular e intracelular.
2. Para *evitar la selección de mutantes resistentes*, como en la tuberculosis, mediante la asociación de estreptomicina o rifampicina con etambutol e isoniazida.
3. En el *tratamiento de las infecciones mixtas* o polimicrobianas, como sucede en las infecciones por aerobios y anaerobios, en las que se debe asociar β-lactaminas o aminoglicósidos con clindamicina, cefoxitina o metronidazol.
4. Para *disminuir la dosis de un antibiótico muy tóxico*. Así, la asociación de anfotericina B con rifampicina o 5-fluorocitosina en el tratamiento de las infecciones por hongos y levaduras.
5. En casos de urgencia para efectuar una *terapéutica de cobertura*, en espera de conocer el agente causal y su sensibilidad (antibiograma). En estos casos suelen asociarse dos antibióticos de amplio espectro, que cubran el mayor número de posibilidades, y deben sustituirse rápidamente por el antibiótico más eficaz de acuerdo con los resultados del antibiograma.

MECANISMOS DE ACCION

Para que un antimicrobiano ejerza su acción, es necesario que llegue al foco infeccioso, penetre en las bacterias y alcance intracelularmente la concentración necesaria. La entrada en la bacteria se puede lograr por difusión o transporte activo.

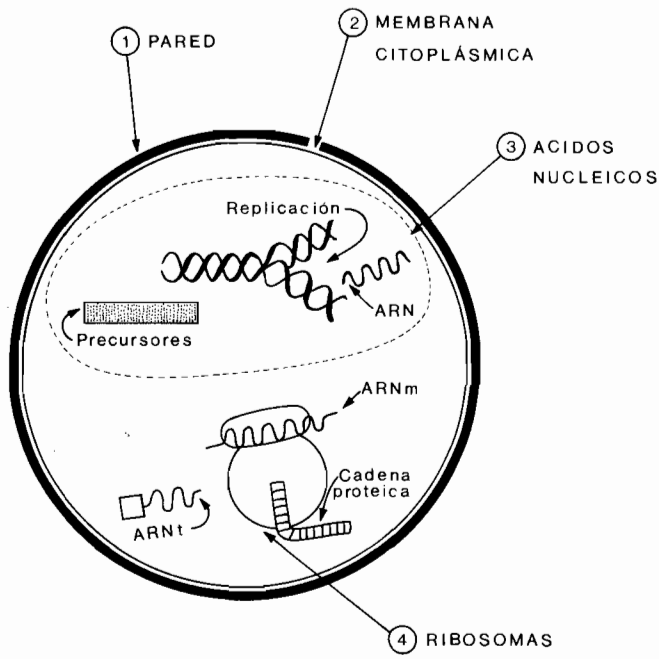


Fig. 12-1. Representación esquemática de los puntos de acción de los antimicrobianos.

Una vez dentro del microorganismo, la actividad del antibiótico puede ser: bacteriostática, inhibiendo la multiplicación de forma reversible, o bactericida, determinando un efecto letal. En general, cada grupo de antibióticos actúa preferentemente de una forma u otra. Son antibióticos bacteriostáticos: tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos; son bactericidas: β-lactámicos, aminoglicósidos, polipéptidos y fosfomicina. En general, los antimicrobianos, que actúan inhibiendo la síntesis de la pared y alterando la permeabilidad de la membrana, son bactericidas, en tanto que los inhibidores de la síntesis proteica son bacteriostáticos, a excepción de los aminoglicósidos.

En el aspecto molecular, los antimicrobianos de uso en clínica pueden ejercer su acción en las siguientes estructuras o funciones (fig. 12-1):

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular.
2. Alteración sobre la membrana citoplásmica.
3. Inhibición de la síntesis proteica.
4. Bloqueo de la síntesis de los ácidos nucleicos.

Inhibición de la síntesis de la pared celular

Entre las numerosas e importantes funciones que se atribuyen a la pared celular, estructura obligada de las bacterias, destaca la función de ser elemento protector de su integridad anatomofisiológica. En este sentido es vital, puesto que las bacterias tienen una gran presión osmótica interna, más las grampositivas (~ 20 atmósferas) que las gramnegativas (~ 5 atmósferas), y sin esta estructura condicionaría su destrucción por un estallido en un medio normal, no hiperosmótico.

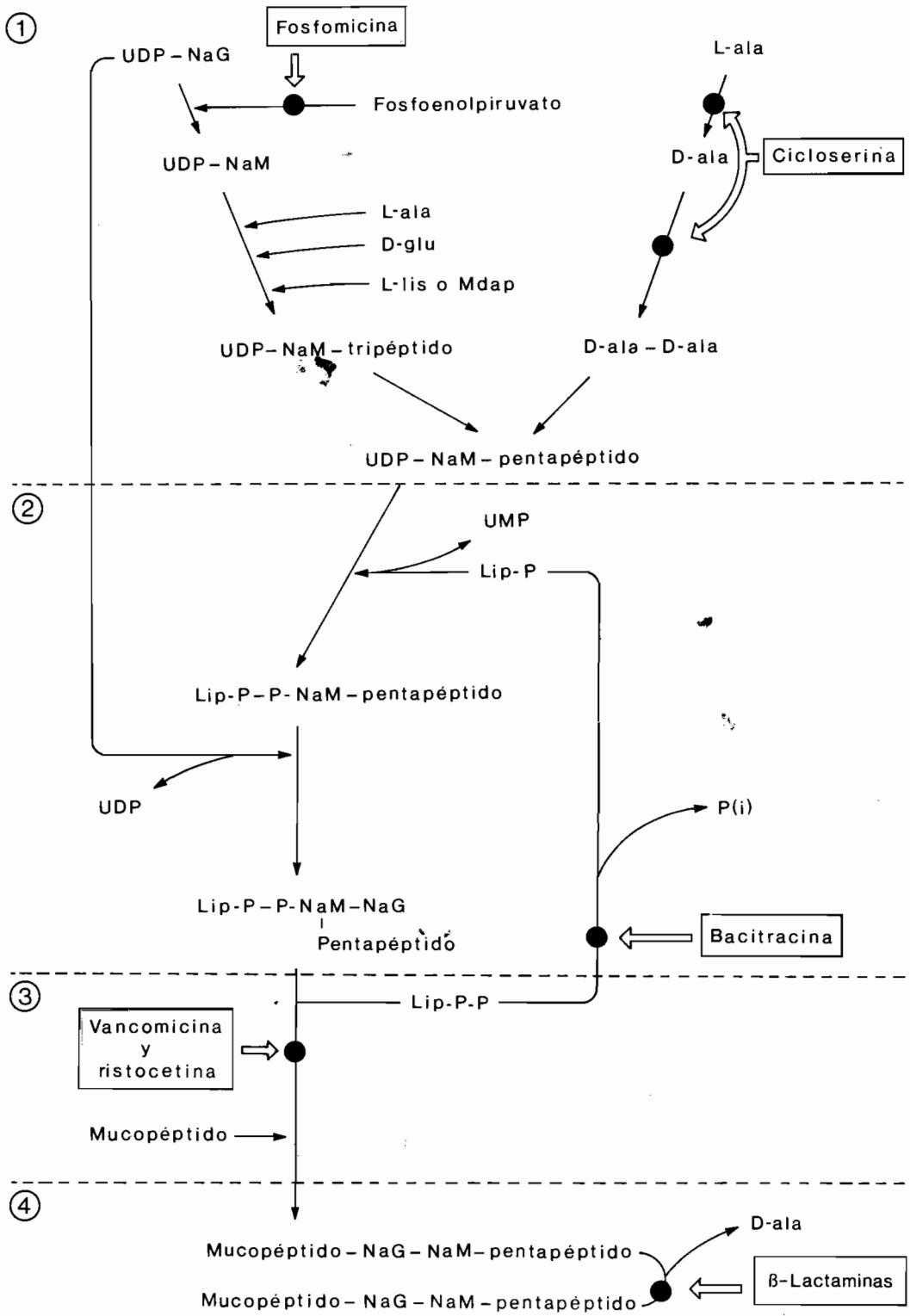


Fig. 12-2. Mecanismo de acción de los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana.

β-*Lactámicos*

En general, se viene admitiendo que las β-lactaminas inhiben la síntesis de la pared celular en su última fase (estadio 4) (fig. 12-2) interfiriéndose la transpeptidación. Son análogos, estructuralmente de la D-alanil-D-alanina (figura 12-3) y por ello se considera que estos fármacos se unen a las transpeptidasas a las que inactivan irreversiblemente.

Recientemente, la investigación ha aportado datos que demuestran que la interpretación antes expuesta debe considerarse incompleta: En primer lugar, en las últimas etapas de la síntesis de la pared intervienen otras enzimas, como

carboxidasa y endopeptidasas, que también son interferidas por estos fármacos. Existen varios tipos de síntesis de peptidoglicanos, que intervienen en la elongación, septación y la forma celular. No todos los β-lactámicos tienen el mismo efecto sobre las bacterias; unos provocan efectos líticos, mientras que otros producen formas enormemente alargadas. De manera similar, estos fenómenos ocurren cuando se emplean concentraciones altas y bajas, respectivamente. Por último, se han descubierto unos receptores proteicos en las bacterias β-lactámicos, que se llaman «proteínas fijadoras de penicilinas» (PBP) y son fundamentales en la acción de los β-lactámicos, pues, cuando no existen, hay una resistencia a estos fármacos. Los distintos β-lactámicos se unen a uno o varios de estos receptores, que pueden ser diferentes para cada uno de ellos.

Los antibióticos β-lactámicos se unen a las proteínas fijadoras de penicilinas, situadas en la membrana celular, y dan lugar a una serie de fenómenos, que son los responsables del efecto final. Estas proteínas son enzimas transpeptidasas, carboxipeptidasas o endopeptidasas y la unión da lugar a la inhibición de la síntesis proteica y a la pérdida de un inhibidor de una enzima responsable de la lisis celular. Las bacterias que poseen autolisinas son lisadas por los β-lactámicos, mientras que las que no las poseen producen formas alargadas ante la presencia de estos fármacos. En *E. coli* se han descrito seis PBP, siendo las de tipo 1, 2 y 3 esenciales. Las 1A y 1B intervienen en la elongación, y produce su inhibición un efecto lítico. La 2 determina la forma y su inhibición da lugar a células ovoideas, y la 3 interviene en la septación, provocando su inhibición la aparición de células filamentosas y lisis.

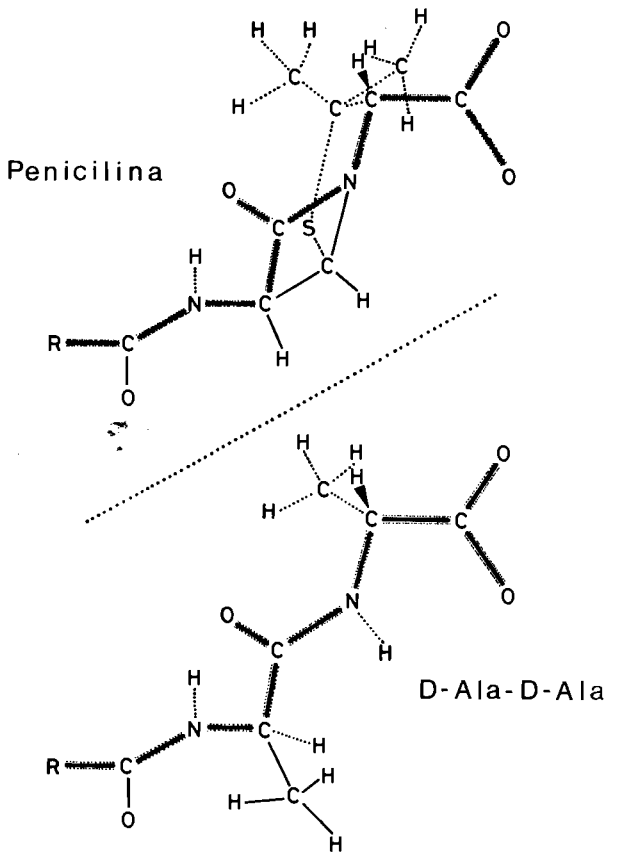


Fig. 12-3. Analogías entre la penicilina y la D-alanil-D-alanina.

Bacitracina

Este antimicrobiano inhibe la hidrólisis o desfosforilización del lípido pirofosfato (estadio 3). Así, éste no puede reutilizarse de nuevo en el transporte de polímeros lineales de disacárido-pentapéptido, a través de la membrana citoplásmica.

Vancomicina

Impide la transferencia del disacárido pentapéptido, unido al lípido portador de la membrana citoplásmica, al aceptor de la pared celular (estadio 3). Esto se consigue uniéndose a la D-alanil-D-alanina terminal del pentapéptido disacárido, lo que impide la actuación del peptidoglicano-sintetasa. De forma similar actúa la ristocetina.

Fosfomicina

Interfiere la condensación de la UDP-NAG con el fosfoenol-piruvato para formar UDP-NAM (estadio 1). Esta reacción es inhibida, porque la fosfomicina se une covalentemente con la transferasa que la cataliza, a causa de su analogía estructural con el fosfoenol-piruvato.

Cicloserina

Actúa sobre la base de su analogía estructural con la D-alanina (fig. 12-2) inhibiendo competitivamente dos reacciones secuenciales (estadio 1). En primer lugar, inhibe la L-alanina-racemasa, que cataliza la transformación de L-alanina en D-alanina y posteriormente la D-alanil-D-alanina-sintetasa, que actúa como catalizador de la formación del dipéptido de alanina.

Los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular necesitan para ejercer su acción que la bacteria se halle en crecimiento activo. Son fármacos en general bactericidas y requieren que el medio en que se encuentre la bacteria sea iso o hipotónico, para que al perder la pared celular pueda estallar. Suelen ser más activos sobre las bacterias grampositivas por su mayor riqueza en peptidoglicano. Salvo excepciones, son poco tóxicos, pues actúan selectivamente sobre la pared, estructura no presente en las células de los mamíferos.

Alteración sobre la membrana citoplásmica

Esta estructura es vital para todas las células, ya que entre sus propiedades incluye el actuar como barrera de permeabilidad selectiva, controlando de esta forma la composición del medio interno celular. Las sustancias que alteran esta estructura modifican la permeabilidad, permiten la salida de iones K y macromoléculas, como los ácidos nucleicos, y causan un efecto lítico.

Los antibióticos utilizados en clínica, que actúan modificando la membrana celular, son las polimixinas y los polienos.

Las polimixinas se comportan como detergentes catiónicos. Son polipéptidos con un extremo liposoluble y otro hidrosoluble. El primero se une a los fosfolípidos de la membrana citoplásmica bacteriana y el segundo penetra en

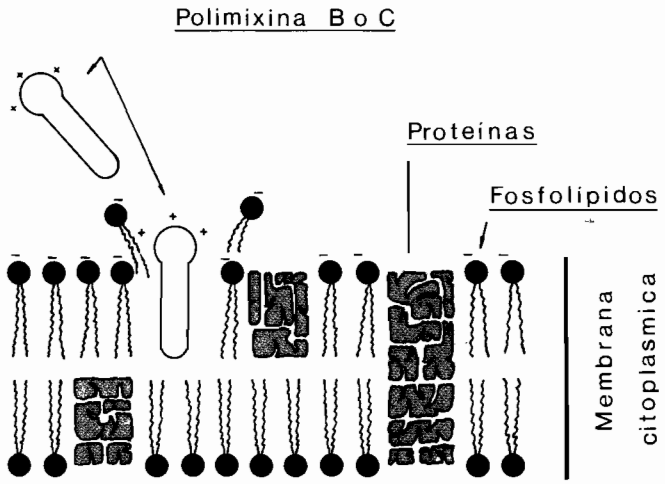


Fig. 12-4. Mecanismo de acción de las polimixinas.

la parte hidrofílica. De esta forma se desorganiza esta estructura y aumenta su permeabilidad, con la pérdida de metabolitos esenciales y muerte bacteriana como resultado final. Las bacterias más susceptibles son las que tienen en su membrana un mayor contenido en fosfolípidos (gramnegativas). La insensibilidad o resistencia está en relación con la impermeabilidad de la pared celular para estos fármacos, como es el caso de las grampositivas que tienen una pared celular muy gruesa (fig. 12-4).

Los antibióticos poliénicos (nistatina y anfotericina B) son activos frente a hongos. Poseen una parte de su molécula con numerosos dobles enlaces (polieno) hidrofóbica y, además, otra hidrofílica. La porción hidrofóbica o lipofílica se une con los esteroles de la membrana celular de los hongos, introduciendo a su vez la parte hidrofílica. De esta forma no sólo se altera la estructura de la membrana, sino que, además, se forman poros hidrofílicos y se modifica la permeabilidad normal de esta estructura.

Todos estos antibióticos son líticos, incluso en bacterias en reposo, y tienen cierto potencial tóxico, especialmente la anfotericina B, ya que son capaces de unirse con los lípidos de las membranas citoplásmicas de las células de los mamíferos.

Inhibición de la síntesis proteica

El proceso de la síntesis proteica se lleva a cabo gracias a la intervención de los diversos tipos de ácido ribonucleico.

El mecanismo de acción de los diferentes aminoglicósidos es similar, y el mejor estudiado es el de la estreptomicina. Estos antimicrobianos actúan uniéndose específicamente, de forma irreversible, con un receptor proteico de los ribosomas 30S (en el caso de la estreptomicina, la proteína P10). Esta unión causa, por un lado, el bloqueo de la actividad normal del complejo de iniciación, con lo que se detiene la síntesis proteica y, por otro, distorsiona el codon del lugar A, provocando la incorporación del ARNt a un aminoácido distinto al codificado. De esta manera se forman proteínas anómalas (fig. 12-5). Algunos aminoglicósidos, como la amikacina, pueden unirse a los ribosomas 50S, por lo que también actuarían a este nivel.

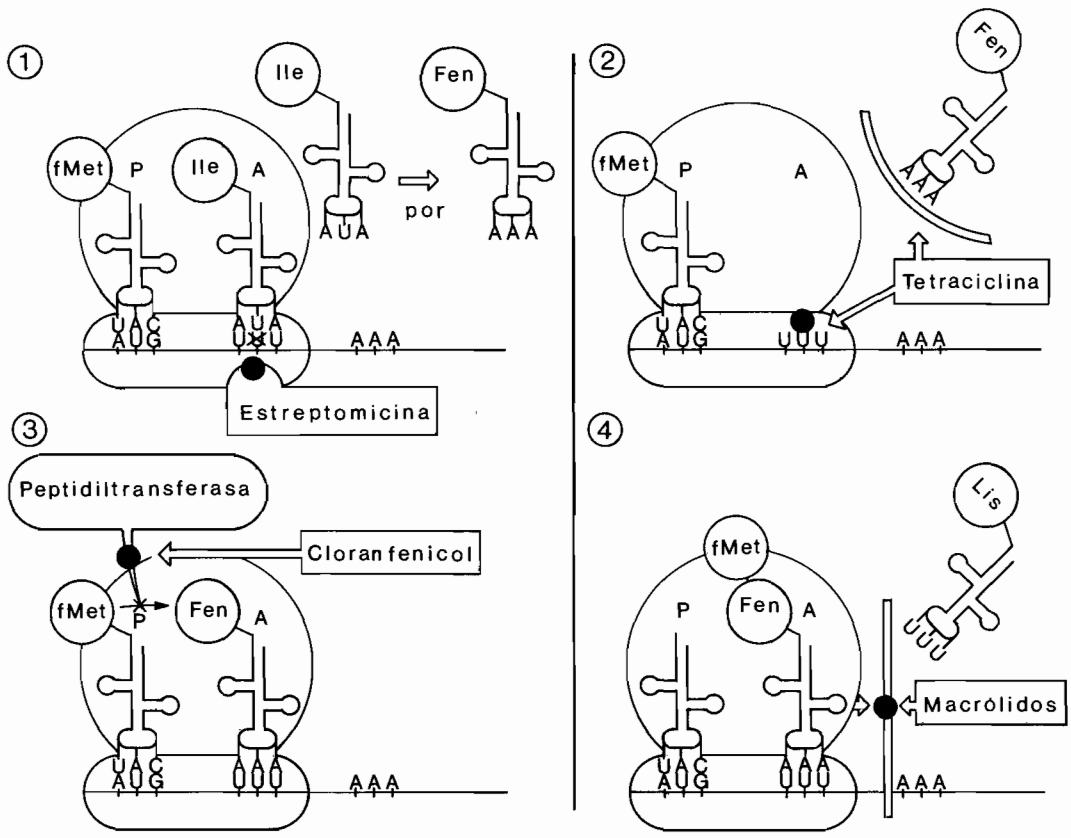


Fig. 12-5. Mecanismo de acción de los antimicrobianos sobre la fracción 30S de los ribosomas.

Las tetraciclinas se unen a los ribosomas 30S y bloquean la fijación del aminoacil-ARNt en el lugar A.

El cloranfenicol y las lincosamidas se unen en el ribosoma 50S e impiden la transferencia, inhiben la peptidiltransferasa y, por ello, la transpeptidación.

Los macrólidos, ácido fusídico y espectinomicina también actúan sobre los ribosomas 50S, impidiendo la translocación, es decir, el paso del peptidil-ARNt del lugar A al P, previa liberación del ARNt.

El cloranfenicol, lincosamidas y macrólidos se unen al mismo receptor en los ribosomas 50S, lo que causa la resistencia cruzada y la competición existente entre ellos.

Bloqueo de la síntesis de los ácidos nucleicos

Las sulfamidas, ácido paraaminosalicílico (PAS), sulfonas y diaminopirimidinas (trimetoprim y pirimetaminas) interfieren en la síntesis de bases, que, como se ha señalado, son fundamentales para la obtención de nuevos ácidos nucleicos.

En la figura 12-6 se observa la vía metabólica por la que se forman el ácido fólico (dihidrofólico) y folínico (tetrahidrofólico) y, consecuentemente, las pirimidinas, purinas y algunos aminoácidos.

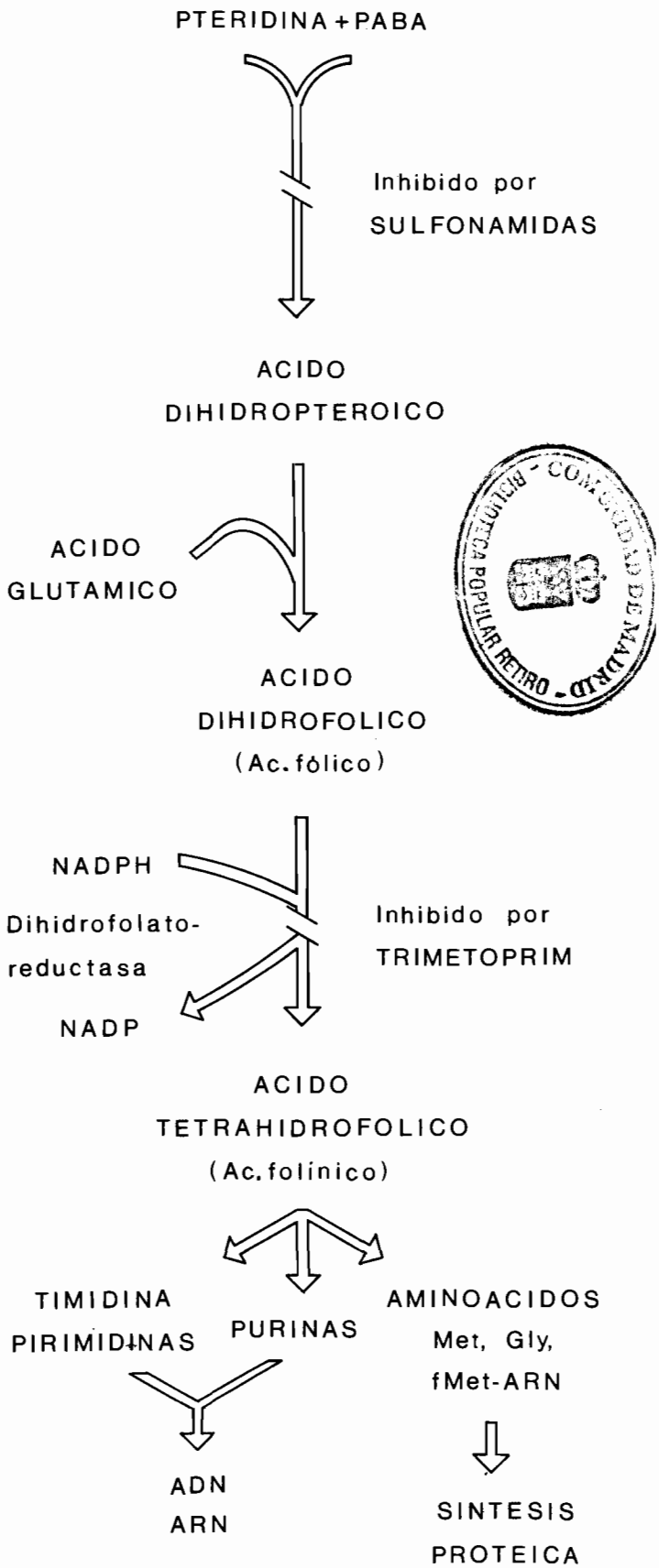
Las sulfamidas, ácido paraaminosalicílico (PAS) y sulfonas son análogos estructuralmente del ácido paraaminobenzoico (PABA) y compiten con él en su incorporación, para formar ácido fólico (fig. 12-6). En realidad inhiben la dihidropteroatosintetasa, que es la enzima que incorpora el PABA para formar ácido dihidropteroico. También se ha señalado que estos agentes desplazarían el PABA y entrarían en la cadena metabólica formando análogos no funcionantes del ácido fólico. Al inhibirse la formación del ácido fólico, se impide la progresión de la cadena metabólica, lo que causa un efecto bacteriostático. Estos antimicrobianos sólo actúan frente a los microorganismos que necesitan sintetizar su ácido fólico y, por ello, no afectan las células del hombre que toman el ácido fólico exógenamente.

Las diaminopirimidinas, trimetoprim y pirimetaminas son análogos al radical pteridínico del ácido dihidrofólico e inhiben la acción de la reductasa del ácido dihidrofólico y, por tanto, la formación del ácido folínico. El trimetoprim tiene más afinidad por la enzima (reductasa) de las células bacterianas que por la de las células de los mamíferos, por lo que resulta poco tóxico. La pirimetamina, que es muy eficaz para algunos protozoos, es más tóxica para el hombre. Son fármacos bacteriostáticos.

El cotrimoxazol (una combinación de sulfametoxazol y trimetoprim) es bactericida, porque bloquea dos pasos de esta cadena metabólica, por mecanismos sinérgicos.

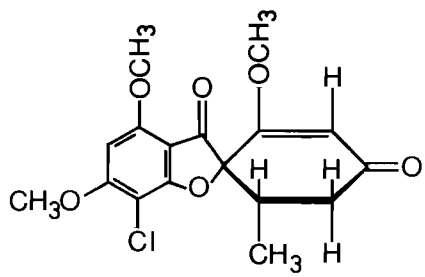
El ácido nalidíxico y otras quinolonas interfieren en la síntesis del ADN, por inhibición de la ADN-girasa. De forma semejante actúa la novobiocina. La replicación del ADN también se inhibe por la griseofulvina, que probablemente actúa por su analogía con las purinas (fig. 12-7).

La transcripción es afectada por la rifampicina y actinomicina D, que inhiben la ARN-polimerasa dependiente del ADN, pero por un mecanismo distinto. Así, la rifampicina interfiere en la iniciación de este proceso y no actúa si ya existe elongación, mientras que la actinomicina D inhibe la progresión de la ARN-polimerasa en cualquier fase.

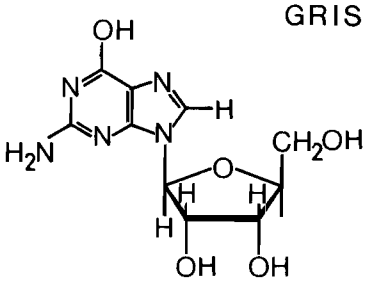


BIBLIOTECA POPULAR RETIRO - COMUNIDAD DE MADRID

Fig. 12-6. Vía metabólica de formación del ácido fólico y derivados.



GRISEOFULVINA



GUANOSINA

Fig. 12-7. Analogía de la griseofulvina con las purinas.

RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS

Clásicamente y en clínica se considera que una cepa bacteriana es resistente a un antibiótico o a un quimioterápico, cuando necesita para inhibirse concentraciones de fármacos superiores a la concentración que el antibiótico puede alcanzar en el sitio de la infección. Así, por ejemplo, una bacteria que produce una bacteriemia y necesita para ser inhibida 5 μg/ml de un determinado medicamento, que en sangre sólo alcanza 2 μg/ml, es un germen resistente. Es un problema grave con el que se enfrenta la microbiología clínica, pues, aparte su gran frecuencia, aparece incluso frente a antimicrobianos de reciente introducción en la terapéutica.

Tipos de resistencia

Natural

Es más correcto denominarla insensibilidad natural. Aparece en las bacterias de una forma preestablecida, por ejemplo, las enterobacterias son resistentes a la penicilina G.

Adquirida

Se debe a modificaciones en la carga genética de las bacterias, que pueden tener lugar en el ADN cromosómico (resistencia cromosómica) y producirse por una mutación o en el ADN extracromosómico o plasmídico (resistencia extracromosómica o plasmídica) y requerirse un intercambio genético por transducción o conjugación.

Cromosómica. Se debe a una mutación de los genes que controlan la sensibilidad a los distintos antimicrobianos. Tiene las propiedades de una mutación: Es rara (10^{-8} a 10^{-12}) (es decir, 1 bacteria cada 100 millones a un billón), espontánea (no necesita inducción), persistente y transmisible por la herencia y por transferencia en algunos casos. Afecta un solo carácter, y para que se manifieste es necesario administrar el antibiótico al que la bacteria es resistente, con el fin de seleccionar las mutantes resistentes y destruir las bacterias sensibles. Se suele presentar en aquellos tejidos donde hay pocas defensas: vías urinarias, superficies serosas, tejido pulmonar, etc.

Se puede expresar de dos formas:

1. Resistencias en un solo escalón. Las bacterias se hacen resistentes al antimicrobiano en una generación. Es lo que ocurre con la estreptomicina (por eso se llama también resistencia tipo estreptomicina), rifampicina, ácido nalidíxico e isoniacida. Clínicamente hay ejemplos de su aparición, como sucede al tratar una infección urinaria con estreptomicina o la tuberculosis con un solo fármaco (por eso hay que hacerlo con varios tuberculostáticos a la vez).
2. Resistencia en varios escalones. Las bacterias se van haciendo resistentes (aumento progresivo de la CMI) de manera paulatina a lo largo de varias generaciones. Se llama también tipo penicilina. Esta resistencia aparece con la penicilina, aminoglicósidos (excepto con la estreptomicina), tetraciclinas y cloranfenicol. Un ejemplo claro es el de la resistencia cromosómica del gonococo. Las cepas de esta bacteria en la actualidad son mucho más resistentes a la penicilina que cuando se comenzó a utilizar este antibiótico, a pesar de continuar siendo sensibles (esto no ocurre con la resistencia plasmídica del gonococo).

Extracromosómica. También se denomina plasmídica o infecciosa. Está codificada por estructuras de ADN extracromósomico, que se denominan plásmidos R. Como todos los tipos de plásmidos, se caracterizan por replicarse de una forma autónoma y pasar de una bacteria a otra por transducción o conjugación, lo que da a esta resistencia una característica importante: la infecciosidad. Aparece sin que el individuo haya estado previamente en contacto con el antibiótico y no necesita fenómeno de selección para manifestarse. Existen dos tipos de plásmidos R, conjugantes y no conjugantes.

1. Plásmidos conjugantes o transferibles por conjugación o factores R. La resistencia vehiculada por estos plásmidos sólo aparece en las bacterias gramnegativas. Se ha demostrado su existencia en enterobacterias, *Pseudomonas*, vibriones, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Bacteroides*.

Esta clase de plásmidos tiene dos tipos de genes, que pueden estar unidos, dispuestos de forma circular o separados:

a) Genes determinantes de la resistencia: se conocen como determinantes *r* o de la resistencia y son aquellos capaces de inducir mecanismos que inactivan o defienden la bacteria de los antibióticos.

b) Factor de transferencia de la resistencia (FTR): es un grupo de genes que capacita la transmisión de una bacteria a otra.

Estos dos tipos de genes pueden estar unidos (cointegrados) o separados (agregados). Si están separados, los genes no se transmiten (sólo está el determinante *r*) o, si lo hacen, no aparece el fenómeno de resistencia (sólo está el FTR).

La transmisión se realiza por conjugación. La bacteria donante induce la formación de *pili* de transmisión para unirse con la bacteria receptora. Esta última se transforma en bacteria dadora una vez que ha recibido el material. Recientemente se ha descrito este tipo de resistencia en cocos grampositivos.

2. Plásmidos no conjugantes. Se transfieren por transducción fágica y aparecen en bacterias grampositivas y gramnegativas. Este tipo de plásmidos son responsables de la mayor parte de la resistencia del estafilococo a la penicilina.

Mecanismo de la resistencia

El mensaje genético que codifica la resistencia a los antibióticos determina, a nivel bioquímico, molecular o estructural, varios mecanismos, que son los responsables en último lugar de que aquélla se manifieste. Los más importantes son:

Por modificación enzimática. Puede ser por hidrólisis o detoxicación. Las β-lactamasas son enzimas hidrolíticas que destruyen el anillo β-lactámico de las β-lactaminas, inactivándolas y determinando, por tanto, la aparición de resistencias a penicilinas y cefalosporinas. Su producción puede estar mediada por cromosomas o plásmidos y, en relación con los antibióticos que inactivan, pueden ser penicilinasas, cefalosporinasas o dobles (con ambas capacidades).

Las enzimas inactivantes intervienen en la resistencia a los aminoglicósidos y cloranfenicol. Como estos antimicrobianos son tóxicos para las bacterias, éstas han desarrollado mecanismos enzimáticos que los inactivan, haciéndolos ineficaces mediante la unión de distintos radicales: grupos acetilo y adenilo y radicales fosfóricos. Las enzimas que detoxifican los aminoglicósidos son fosforilasas (APH), acetiltransferasas (AAC) y adenilasas (AAD o ANT).

Por alteraciones en la permeabilidad. Sucede así con tetraciclinas, fosfomicina, aminoglicósidos y β-lactaminas.

Por cambios en los lugares donde actúan los antimicrobianos. Por ejemplo, modificando la estructura de los ribosomas en el caso de la resistencia de la lincomicina, eritromicina o aminoglicósidos, y por alteraciones en las PBP en los β-lactámicos.

Por modificación de los sistemas enzimáticos de la bacteria. Esto ocurre con la ARN-polimerasa en la resistencia a la rifampicina y con la folatosintetasa en la resistencia a las sulfamidas.

BASES PARA LA UTILIZACION CLINICA DE LOS ANTIMICROBIANOS

Para tratar a un enfermo con antibióticos, es necesario tener en cuenta tres principios básicos:

1. Considerar si está indicado su empleo.
2. Elegir el antibiótico ideal para aquella afección.
3. Administrarlo por la vía idónea y a las dosis adecuadas.

Indicación de los antibióticos

Puede ser terapéutica y profiláctica.

La indicación terapéutica o no de la administración de un antibiótico está determinada fundamentalmente por la clínica. Así, existen una serie de síntomas infecciosos, entre los que destaca la fiebre, que obliga a considerar la necesidad de la utilización de estos fármacos. No obstante, es preciso recordar la existencia de hipertermias que no son de origen infeccioso: paraneoplásicas, por reacciones inmunológicas, por necrosis tisulares, por trastornos metabólicos, etc., en las cuales, por supuesto, no está indicado el uso de antimicrobianos.

Existe otro grupo de afecciones que, aunque causadas por agentes infecciosos, no son sensibles a los antibióticos, como es el caso de las virosis. Por último, en ocasiones, surgen enfermedades bacterianas causadas por organismos sensibles a los antibióticos, pero en las que no es necesario su empleo, como acontece con shigelosis y salmonelosis no complicadas, y otras gastroenteritis que curan simplemente con la dieta.

Las indicaciones profilácticas (quimioprofilaxis) de los antibióticos han sido siempre muy discutidas y en todo caso parecen ser poco numerosas. Las razones que justifican su no utilización de forma sistemática son los riesgos tóxicos, el aumento de la resistencia bacteriana y la selección de bacterias resistentes que comporta la utilización de los antibióticos.

Una guía útil sería limitar su empleo a las dos situaciones siguientes:

1. Existencia de un riesgo infeccioso mayor que el que representa la administración del antibiótico.
2. Posibilidad de emplear un antibiótico de corto espectro, desprovisto de efectos secundarios y que no seleccione bacterias resistentes.

Las indicaciones profilácticas pueden ser médicas o quirúrgicas. Entre las primeras están: la fiebre reumática, erisipela recidivante, endocarditis estreptocócica, meningitis meningocócica, tuberculosis, cólera y, posiblemente, bronquitis crónica y difteria. Las indicaciones quirúrgicas son también muy limitadas y controvertidas: intervenciones abdominales con posible contaminación entérica, cirugía de colon, lesiones traumáticas con necrosis y esfacelos. Lo que sí es aceptado de forma general es que no debe emplearse en cirugía limpia.

En resumen, tanto en el tratamiento como en la profilaxis con antibióticos, es de vital importancia su aplicación estricta en aquellos casos en que está indicado, pues se corre el riesgo de crear resistencias y provocar sobreinfecciones, aparte otros efectos secundarios.

Elección del antibiótico ideal

El triángulo de Davis explica de forma esquemática la interrelación existente entre los tres protagonistas de toda enfermedad infecciosa, huésped, microorganismo y antimicrobiano (fig. 12-8), como muestra el esquema:

1. El microorganismo produce en el huésped la *enfermedad* infecciosa.

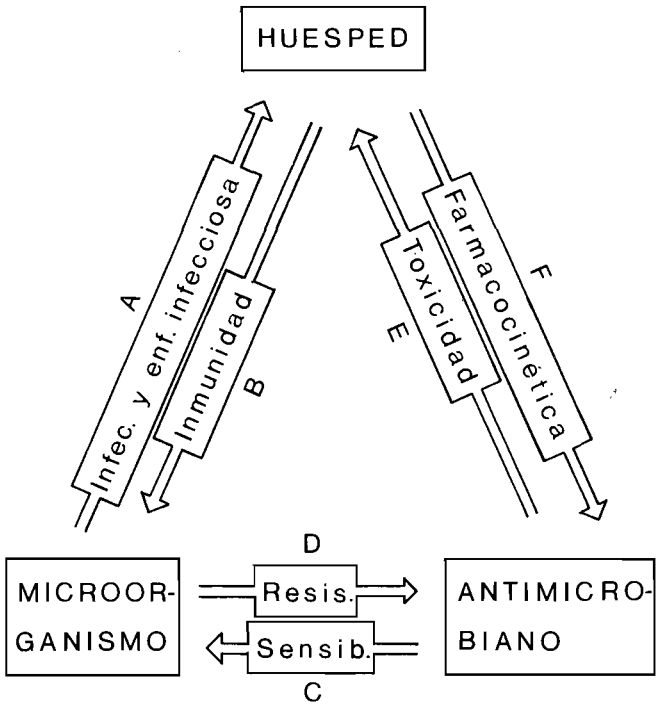


Fig. 12-8. Triángulo de Davis.

2. El huésped responde frente al microorganismo *(inmunidad).*

3. El antimicrobiano ataca el agente causal mediante su acción bacteriostática o bactericida *(sensibilidad).*

4. El patógeno reacciona frente al antimicrobiano creando *resistencias.*

5. El antimicrobiano puede alterar el fisiologismo normal del huésped, con su *toxicidad* y otros efectos secundarios.

6. El huésped reacciona con el antibiótico determinando la *farmacocinética* de éste.

Conociendo a fondo estas interacciones, la elección del antibiótico ideal para cada enfermedad infecciosa y cada paciente resulta más correcta.

Entre las condiciones que debe reunir un buen antimicrobiano destacan: que sea eficaz frente al agente causal, bactericida mejor que bacteriostático, capaz de penetrar y llegar a concentraciones adecuadas al foco de infección (p. ej., no se utilizarán en meningitis antibióticos que no atraviesen la barrera hematoencefálica), el menos tóxico, el de espectro más reducido (para no provocar sobreinfecciones) y, por último, ante igualdad de eficacia, el más barato.

En cuanto al microorganismo causal, lo principal es poder llegar al diagnóstico etiológico para así poder elegir el más eficaz:

1. Hay enfermedades infecciosas o síndromes en los que el diagnóstico clínico es suficiente para asegurar un tratamiento correcto: sífilis, escarlatina, reumatismo poliarticular agudo secundario a amigdalitis, donde el comportamiento del microorganismo es siempre el mismo. Pero hay otras, la mayoría, en las que el diagnóstico clínico no basta y es preciso recurrir al laboratorio, que ofrece datos directos o indirectos (morfología, cultivos, reacciones serológicas y ejecución del antibiograma), específicos, para administrar el antimicrobiano más adecuado.

2. Por parte del huésped, antes de administrar un antibiótico a un paciente, se ha de tener en cuenta una serie de contingencias que se pueden resumir en: posible hipersensibilidad al fármaco; caída de defensas generales, y en este caso utilizaremos antibióticos bactericidas a altas dosis y por vía intravenosa; disminución de defensas locales, que exige drenaje del foco; posible embarazo, que contraindica rotundamente ciertos antimicrobianos; edad, los ancianos eliminan más lentamente los medicamentos y lo mismo sucede en los recién nacidos y prematuros, debido a que los órganos metabólicos están inmaduros; estado de los órganos de detoxicación del paciente, en insuficiencia hepática o renal, y si se aplican fármacos totalmente contraindicados o que precisan espaciar más las dosis debido al retardo en la eliminación.

Buena administración

Las condiciones para una administración adecuada de los antibióticos son las siguientes:

1. Urgencia en la instauración del tratamiento: meningitis, peritonitis, endocarditis, etc.

Tabla 12-1. Agentes antibacterianos de elección

Organismo	Antibiótico de 1.ª elección	Antibiótico de 2.ª elección
Cocos grampositivos		
Staphylococcus aureus		
No productores de penicilinasa	Penicilina	Cefalosporinas*, vancomicina, clindamicina, eritromicina
Productores de penicilinasa	Penicilinas resistentes a penicilinasa**	Cefalosporinas*, vancomicina, clindamicina, eritromicina
Estreptococos β-hemolíticos (grupos A, B, C, G)	Penicilina	Cefalosporinas*, eritromicina
α-Estreptococos *(S. viridans)*	Penicilina	Cefalosporinas*, vancomicina, eritromicina
Enterococos		
(Endocarditis u otras infecciones serias)	Penicilina (o ampicilina) + estreptomicina o gentamicina	Vancomicina + estreptomicina o gentamicina
Infecciones no complicadas del tracto urinario	Ampicilina	Eritromicina, norfloxacina
S. pneumoniae	Penicilina	Cefalosporinas*, eritromicina, cloranfenicol

Tabla 12-1. *(Continuación.)*

Organismo	Antibiótico de 1.ª elección	Antibiótico de 2.ª elección
Cocos gramnegativos		
Neisseria meningitidis	Penicilina	Cloranfenicol
Neisseria gonorrhoeae	Penicilina	Espectinomicina, tetraciclina, ampicilina, amoxicilina, cefoxitina, ceftriaxona Ciprofloxacina, ofloxacina
Bacilos gramnegativos		
Acinetobacter spp.	Gentamicina (o kanamicina) + carbenicilina	Sulfisoxazol, cotrimoxazol, doxiciclina, ureidopenicilinas
Brucella spp.	Tetraciclina + estreptomicina	Cotrimoxazol, rifampicina
Enterobacter spp.	Gentamicina o tobramicina	Amikacina, carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, cefotaxina
E. coli		
Infecciones del tracto urinario no complicadas	Norfloxacina, amoxicilina o cotrimoxazol	Cefalosporinas, amoxicilina + ácido clavulánico
Infección sistémica	Gentamicina o tobramicina	Ampicilina, cefalosporinas*, carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, amikacina
Francisella tularensis	Estreptomicina	Tetraciclina, cloranfenicol
Haemophilus influenzae		
Meningitis	Cloranfenicol, cefotaxima	Ampicilina
Otras infecciones	Amoxicilina + ácido clavulánico	Cotrimoxazol, tetraciclina
Bordetella pertussis	Eritromicina	Tetraciclina, cloranfenicol
Legionella pneumophila	Eritromicina	Rifampicina
Klebsiella pneumoniae	Gentamicina o tobramicina	Amikacina, cloranfenicol, cotrimoxazol, cefalosporinas de 2.ª y 3.ª generación
Proteus mirabilis	Ampicilina o amoxicilina Amoxicilina + ácido clavulánico	Gentamicina o tobramicina, cefalosporinas de 2.ª y 3.ª generación
Otros *Proteus* spp.	Gentamicina o tobramicina	Carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, amikacina
Providencia spp.	Gentamicina o tobramicina	Amikacina, carboxipenicilinas, ureidopenicilinas
Pseudomonas aeruginosa	Tobramicina (o amikacina) + carboxipenicilinas o ureidopenicilinas	Polimixina B, colistina, ceftazidima, cefsulodina
Vibrio cholerae	Tetracilinas	Cotrimoxazol
Salmonella spp.	Cloranfenicol	Ampicilina o amoxicilina, cotrimoxazol
Serratia marcescens	Gentamicina	Amikacina, carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, tobramicina
Shigella spp.	Cotrimoxazol	Ampicilina
Yersinia pestis	Estreptomicina	Tetraciclina, cloranfenicol
Anaerobios		
Estreptococos anaerobios	Penicilina	Clindamicina, eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina
Bacteroides spp.		
Orofaríngeas	Penicilina	Clindamicina, tetraciclina, cloranfenicol
Gastrointestinales (*B. fragilis* y especies afines)	Cefoxitina, otras cefamicinas	Cloranfenicol, metronidazol, clindamicina, carboxipenicilinas, ureidopenicilinas
Clostridium spp.	Penicilina	Cloranfenicol, clindamicina
Espiroquetas		
Treponema pallidum	Penicilina	Tetraciclinas o eritromicina
Leptospira interrogans	Penicilina o tetraciclina	Eritromicina
Borrelia spp.	Tetraciclina o cloranfenicol	Penicilina o eritromicina
Otros		
Mycoplasma pneumoniae	Tetraciclina o eritromicina	Ciprofloxacina, ofloxacina
Rickettsia	Tetraciclina o cloranfenicol	
Chlamydia		
C. trachomatis	Tetraciclina o sulfamidas	Eritromicina, cloranfenicol, ciprofloxacina, ofloxacina
C. psittaci	Tetraciclinas	
Micobacterias		
M. tuberculosis	Rifampicina + etambutol + isoniazida	Estreptomicina, ácido p-aminosalicílico, pirazinamida, etionamida
M. atípicas	Según sensibilidad	
M. leprae	Dapsona	Clofazimina, rifampicina

*Cefalotina, cefazolina, cefapirina, cefradina, cefalexina.
**Cloxacilina o dicloxacilina.

2. Dosificación adecuada: No en relación con la gravedad del cuadro, sino con los niveles que alcance el antibiótico en el lugar de la infección. Normalmente se dosifica con el peso y la edad del individuo.

3. Intervalos, condicionados a la farmacocinética del preparado. La ampicilina hay que administrarla cada 6 horas, la gentamicina, cada 8 horas, etc.

4. Vías de administración idóneas. Si bien la oral es la más accesible y lógica, hay casos en los que no se puede utilizar (p. ej., cuando aparecen náuseas y vómitos que condicionan la no absorción, o en pacientes comatosos o en procesos muy graves que requieren una rápida absorción) y se precisa, por tanto, la vía parenteral.

La duración del tratamiento dependerá de cada enfermedad; en ocasiones unos pocos días son suficientes (amigdalitis estreptocócicas) y en otros casos se precisa un tratamiento continuado durante semanas (brucelosis, fiebre tifoidea, etc.) o meses (tuberculosis).

En la tabla 12-1 se enumeran los antimicrobianos de elección de diversos cuadros clínicos.

VALORACION DE LOS ANTIBIOTICOS

Se lleva a cabo mediante dos métodos:

Dilución

Consiste en obtener diluciones dobles y progresivas de un antibiótico (1, 2, 4, 8, 16, etc. µg/ml). El procedimiento se puede realizar en medio líquido o sólido.

Si se cultiva una suspensión bacteriana sobre estos medios, en un momento determinado se obtienen concentraciones de antibióticos suficientes que no permiten el desarrollo de los gérmenes. Recibe el nombre de concentración mínima inhibitoria (CMI) la menor cantidad o concentración de antibiótico, que es capaz de inhibir el crecimiento de la bacteria.

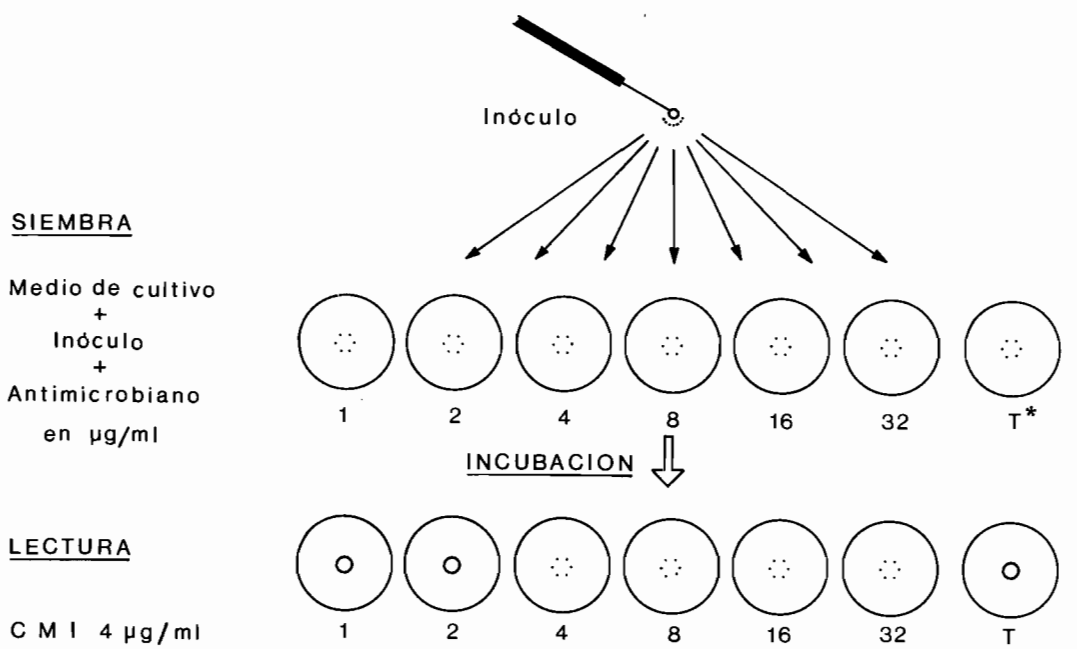
Sobre medio líquido, con diluciones progresivas de antibióticos en los tubos, al añadir una cantidad fija de bacterias, en aquellos tubos donde la bacteria se desarrolla y multiplica aparece turbidez. Cuando el antibiótico inhibe el crecimiento, aparece un aclaramiento de toda la masa líquida del medio de cultivo.

La dilución del antibiótico correspondiente al primer tubo en que no existe crecimiento es la CMI (fig. 12-9).

A partir de los tubos donde no hay crecimiento se puede determinar la concentración mínima letal (CMB), que es aquella que no sólo inhibe las bacterias, sino que también las destruye. Se detecta resembrando sobre medios y observando el desarrollo o no de colonias.

Si de los tubos anteriores con intervalos pequeños de tiempo se efectúan resiembras en medio sólido se puede hacer una curva de crecimiento bacteriano de cada uno de ellos. A medida que la concentración del antibiótico aumenta, se observa un enlentecimiento, cada vez más marcado, de la multiplicación bacteriana hasta llegar a una concentración de antibiótico, en la que no existe modificación del número de bacterias (efecto bacteriostático). En los tubos siguientes, en los que la concentración de antibióticos es cada vez mayor, va disminuyendo el número de bacterias y puede alcanzarse una esterilización total (efecto bactericida).

En medio sólido, las bacterias desarrolladas forman colonias. Las zonas en que no aparezcan éstas indican que el



* T = Testigo (control sin antimicrobiano)

Fig. 12-9. Determinación de la CMI.

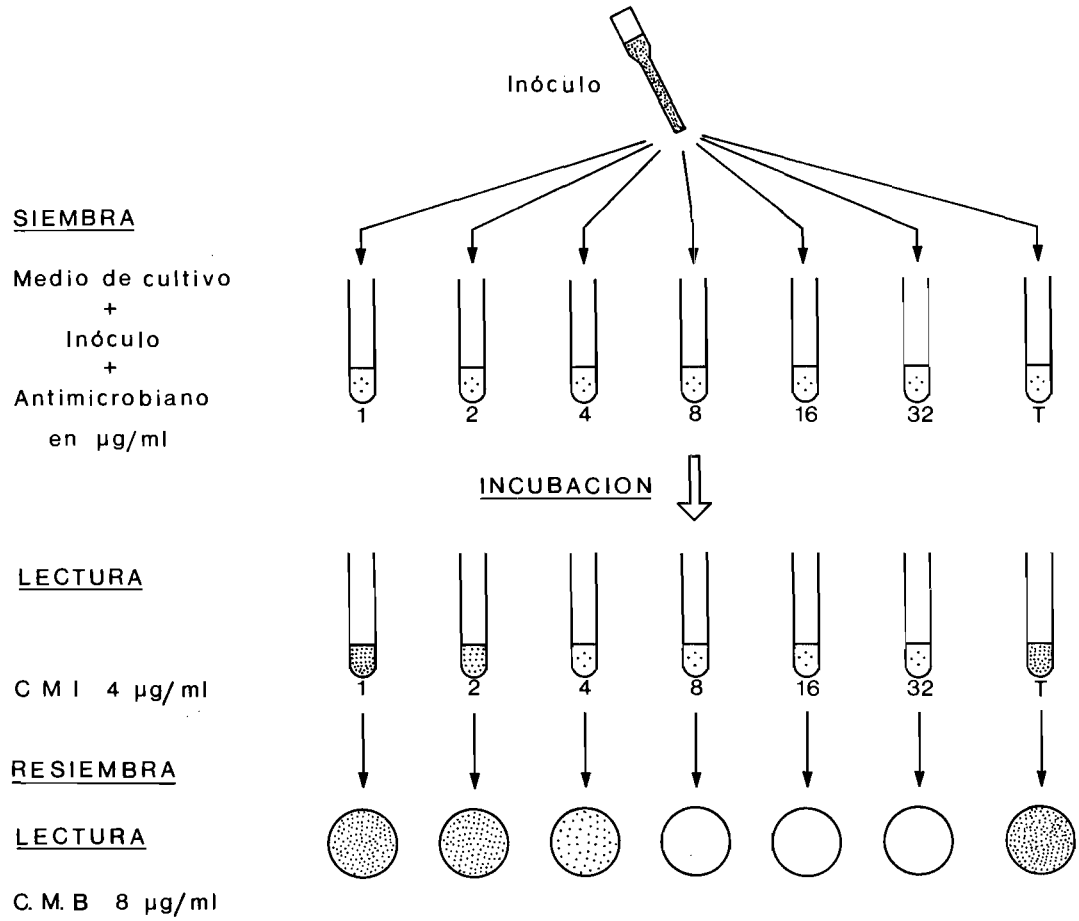


Fig. 12-10. Determinación de la CMB.

antibiótico ha inhibido el crecimiento. La ventaja de este procedimiento, sobre el anterior en medio líquido, es que podemos sembrar sobre la placa de forma simultánea varias bacterias (fig. 12-10).

Difusión en agar

Mediante este sistema se prueba la eficacia de varios antibióticos a partir de una siembra en superficie sobre un medio sólido de una suspensión bacteriana, depositando a continuación sobre ella discos de papel de filtro impregnados de antimicrobianos.

Como el agar está suficientemente húmedo, los antibióticos difunden y se crea así concentraciones progresivamente decrecientes a partir del disco. En aquella zona donde la concentración de antibióticos es capaz de impedir el crecimiento de la bacteria, aparece un halo de inhibición.

La valoración de los halos se hace por patrones obtenidos de forma que se hayan correlacionado la CMI, el diámetro del halo de inhibición y la carga de antibiótico del disco (fig. 12-11). Para ello es necesario determinar de forma individual la CMI y el halo de inhibición de un número amplio de cepas. Representando en un sistema de coordenadas los resultados, puede trazarse una recta de regresión que refleje la correspondencia existente entre el halo de inhibición y la CMI para un antibiótico determinado. De esta forma, sí conocemos el halo de inhibición de una cepa por el método disco-placa, trasladando éste a la escala anterior puede conocerse su CMI (fig. 12-11).

ESTUDIO PORMENORIZADO DE LOS PRINCIPALES ANTIMICROBIANOS DE APLICACION EN CLINICA

β-Lactaminas o antibióticos β-lactámicos

El rasgo químico común es la posesión de un anillo β-lactámico, que determina muchas de las propiedades que comparten. (En la tabla 12-2 se recoge la clasificación y características generales de este grupo.)

Se trata de una familia que engloba antibióticos muy importantes tanto por su actividad como por su amplia utilización. Es quizá dentro de ella donde en los últimos años se han descrito mayor número de nuevos antimicrobianos con posibilidades clínicas y que aportan sustanciales ventajas sobre los ya descritos. Son poco tóxicos, al interferir un proceso vital para las bacterias, que no existe en el hombre u otros mamíferos, la síntesis de la pared celular. Los fenómenos nocivos más importantes que desencadenan son de tipo anafiláctico (hipersensibilidad tipo I de Coombs y Gell). La resistencia a estos fármacos se adquiere principalmente por

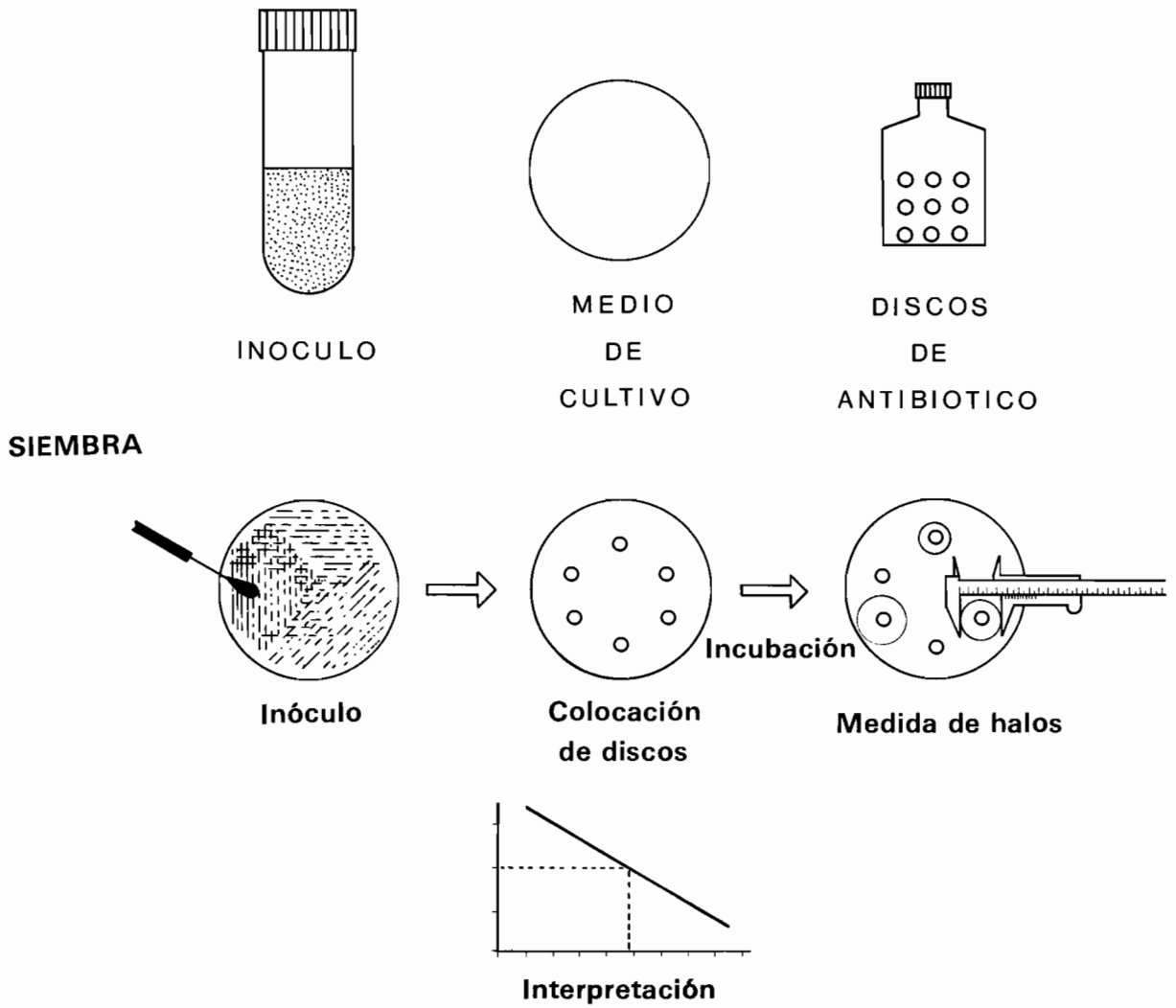


Fig. 12-11. Obtención de la recta de regresión.

la producción de β-lactamasas, pero también por la pérdida o baja afinidad de unión de los receptores proteicos para las penicilinas que las bacterias tienen en la membrana citoplásmica.

Penicilinas

La bencilpenicilina fue aislada a partir del hongo *Penicillium notatum* por Fleming, en 1928. Desde entonces se han obtenido nuevas penicilinas bien de origen biológico o por semisíntesis a partir del ácido penicilánico, y se ha logrado aumentar el espectro frente a microorganismos gramnegativos.

Químicamente, todas las penicilinas constan de un anillo tiazolidínico, otro β-lactámico y una cadena lateral, que es la que diferencia las distintas penicilinas (tabla 12-1). Las acciones nocivas de estas sustancias son fundamentalmente alérgicas, aunque pueden dar lugar a otros fenómenos adversos, que se señalan en la tabla 12-3.

Las penicilinas se clasifican fundamentalmente sobre la base de su estructura química en 6 grupos. Cada uno de estos grupos químicos determina que los miembros que lo componen tengan unas determinadas propiedades farmacodinámicas y de acción sobre las bacterias. En la tabla 12-4 se expone la clasificación de estos antibióticos, así como la vía de administración más usual.

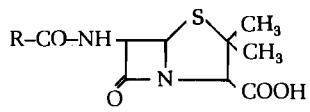
Bencilpenicilina o penicilina G. Se presenta en forma de sales. Las sales sódicas y potásicas tienen una vida media muy corta y por ello se administran cada 4 horas. Para subsanar este problema, existen las sales con procaína y benzatina (2 moléculas de penicilina unidas) que se eliminan más lentamente, si bien se obtienen niveles séricos inferiores. Su espectro de acción incluye: estreptococos (a excepción de los enterococos, que tienen una sensibilidad variable y algunas cepas resistentes de *Streptococcus pneumoniae*), estafilococos (salvo *Staphylococcus aureus* productores de β-lactamasas y las cepas resistentes de *Staphylococcus epidermidis*), *Neisseria* (excepto los gonococos productores de β-lactamasas) y anaerobios (menos *Bacteroides fragilis, Fusobacterium varium, Clostridium ramosum*) *Corynebacterium diphtheriae, Bacillus anthracis, Actinomyces*, asociación fusoespirilar y *Treponema pallidum*.

En definitiva, la penicilina G sería el fármaco de elección en las infecciones provocadas por cocos y bacilos grampositivos, con las excepciones señaladas en el espectro, y por

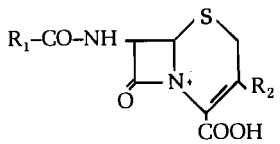
Tabla 12-2. β-Lactaminas

Clasificación

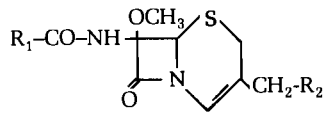
Penicilinas



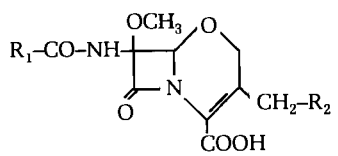
Cefalosporinas



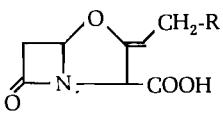
Cefamicinas



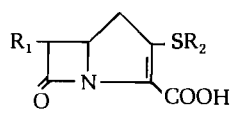
Oxacefeminas



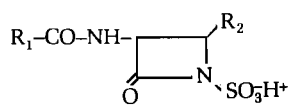
Clavaminas



Carbapeneminas



Monobactámicos



Características

1. Químicas: el anillo β-lactámico
2. Microbiológicas: actividad frente a gram + y gram –
3. Mecanismo de acción: bactericida, inhiben la síntesis de la pared celular
4. Efectos adversos: poco tóxicas, fenómenos de hipersensibilidad
5. Resistencia: cromosómica y extracromosómica en penicilinas y algunas cefalosporinas, principalmente por enzimas inactivantes

tanto constituye el tratamiento de elección de amigdalitis, otitis, sinusitis y otras infecciones de vías respiratorias, también en la gonococia junto con probenecid para conseguir niveles muy elevados y en meningitis meningocócica, difteria, carbunco, infecciones anaerobias en las que no esté implicado *B. fragilis*, sífilis, actinomicosis y fusoespiroquetosis (angina de Vincent).

Se usa, además, penicilina en la profilaxis de la fiebre reumática (penicilina V o penicilina benzatina), en epidemias por *S. pyogenes* (penicilina V o benzatina), sífilis y gonococia (penicilina procaína) y endocarditis en enfermos con afectación valvular previa.

Fenoxi-alquil-penicilinas. Son penicilinas orales que se investigaron para subsanar el problema de la ácido-labilidad de la penicilina G. Su espectro es semejante al de la bencilpenicilina. Su utilización clínica se limita a la continuidad de tratamiento de una infección producida por un organismo sensible (*S. pyogenes, S. pneumoniae*), iniciado con penicilina G, y a la profilaxis de infecciones estreptocócicas en pacientes con antecedentes de fiebre reumática.

Penicilinas antiestafilocócicas. Los estafilococos fueron las primeras bacterias en desarrollar resistencia a la penicilina al producir una penicilinasa, cuyo control genético es plasmídico y transferible por transducción. Para subsanar esta resistencia, se desarrollaron estas penicilinas, semisintéticas, cuya indicación clínica de uso son precisamente las infecciones producidas por estas bacterias.

α-Amino-bencilpenicilinas. Todo este grupo, a excepción de las ureidopenicilinas, tienen un espectro prácticamente idéntico. Al de la penicilina G suman una mayor actividad frente a enterococo y *Haemophilus* y sensibilidad frente a *Listeria monocytogenes, E. coli, Shigella, Salmonella* y *Proteus mirabilis*. De todos los preparados (tabla 12-4) tienen interés la ampicilina, la amoxicilina y los ésteres de ampicilina.

La ampicilina tiene una absorción oral baja cuando se administra junto con los alimentos. Este problema se ha subsanado con la amoxicilina y los ésteres, particularmente con la talampicilina y bacampicilina, que se pueden tomar con las comidas. Por otro lado, se obtienen niveles sanguíneos semejantes a los de la ampicilina por vía intramuscular. Clínicamente, estos preparados se pueden utilizar en cualquier

Tabla 12-3. Reacciones adversas de las penicilinas

Tipo de reacción	Frecuencia de aparición	Tipo de fármaco más implicado
Alérgica		
Anafiláctica	0,004-0,04 %	Penicilina G
Rash de piel y mucosas	4 % (8 %)	Ampicilina
Enfermedad del suero	Rara	Penicilina G
Gastrointestinal		
Diarrea	25 %	Ampicilina
Enterocolitis	1 %	Ampicilina
Hematológica		
Anemia hemolítica	Rara	Penicilina G
Neutropenia	Rara	Penicilina G, oxacilina
Disfunción plaquetaria	3 %	Carbenicilina
Hepática		
Tasa elevada de SGOT	Poco frecuente	Oxacilina, nafcilina, carbenicilina
Alteraciones electrolíticas		
Sobrecarga de sodio	Variable	Carbenicilina
Hipopotasemia	Variable	Carbenicilina
Hiperpotasemia aguda	Rara	Penicilina G
Neurológica		
Convulsiones	Rara	Penicilina G
Desorientación espacial		Penicilina procaína
Renal		
Nefritis intersticial	?	Meticilina

Todos estos efectos secundarios pueden suceder con cualquiera de las penicilinas.

Tabla 12-4. Clasificación y vías de administración de las penicilinas

Bencilpenicilina (penicilina G)	
Sódica	IM, IV
Procaína	IM
Benzatina	IM
Fenoxialquilpenicilinas	
Fenoximetilpenicilina (penicilina V)	PO
Fenoxietilpenicilina (feneticilina)	PO
Fenoxipropilpenicilina (propicilina)	PO
Penicilinas antiestafilocócicas	
Meticilina	IM, IV
Nafcilina	IM, IV
Isoxazolpenicilinas	
Oxacilina	PO
Cloxacilina	PO, IM, IV
Dicloxacilina	PO
Flucloxacilina	PO
Aminobencilpenicilinas	
Ampicilina	PO, IM, IV
Condensados de ampicilina	
Hetacilina	PO
Metampicilina	PO, IM, IV
Esteres de la ampicilina	
Pivampicilina	PO
Talampicilina	PO
Bacampicilina	PO
Análogos de la ampicilina	
Amoxicilina	PO
Fibracilina	PO, IM, IV
Epicilina	PO
Ciclacilina	PO
α-Amino-derivados: ureidopenicilinas	
Azlocilina	IM, IV
Mezlocilina	IM, IV
Piperacilina	IM, IV
Carboxipenicilinas	
Carbenicilina	IM, IV
Ticarcilina	IM, IV
Esteres de la carbenicilina	
Carindacilina	PO
Carfecilina	PO
Amidinopenicilinas	
Mecilinam	IM, IV
Pivmecilinam	PO
6α-Metoxipenicilinas	
Temocilina	IM, IV

infección en que estén implicados microorganismos sensibles: afecciones de las vías respiratorias, meningitis por *H. influenzae*, listeriosis, salmonelosis, infecciones urinarias, infecciones por enterococos, shigelosis (a excepción de la amoxicilina), etc. Todos estos compuestos son sensibles a β-lactamasas.

Ureidopenicilinas. Son α-amino-derivados y se incluyen en este grupo algunas de las penicilinas últimamente descubiertas e introducidas en la clínica en algunos países. La azlocilina tiene un espectro semejante al de la carbenicilina (v. más adelante), pero es más activa frente a *Pseudomonas aeruginosa* (16 veces) y menos frente a *Proteus*.

La mezlocilina y piperacilina unen al espectro de la carbenicilina una mayor actividad frente a cocos grampositivos y bacilos gramnegativos *(Pseudomonas aeruginosa)*, incluida *Klebsiella*.

Estos antibióticos deben aplicarse después de un antibiograma, puesto que la sensibilidad de las cepas es variable, y preferentemente en hospitales. Son sensibles a β-lactamasas.

Carboxipenicilinas. Su espectro es similar al de la ampicilina, pero con actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* (más la ticarcilina, 2 a 4 veces), *Proteus* indol-positivos *(P. vulgaris, Morganella morganii* y *Providencia rettgeri, stuartii* y *alcalifaciens), Bacteroides fragilis* y algunas cepas de *Enterobacter* y *Serratia*. Son menos activas frente a los cocos grampositivos. Como las ureidopenicilinas, son sensibles a las β-lactamasas y actúan sinérgicamente con los aminoglicósidos frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Están indicadas en infecciones producidas por bacterias sensibles, previo antibiograma, y su uso es hospitalario.

La indanil-carbenicilina y la carfecilina son ésteres de carbenicilina que se hidrolizan, una vez absorbidas, liberando carbenicilina. Por los niveles que se obtienen, sólo están indicadas en infecciones urinarias por *Pseudomonas aeruginosa*.

Amidinopenicilinas. El mecilinam (amidinocilina) y su éster pivaloil, pivmecilinam (administrable por vía oral), presentan un espectro muy distinto al de otras penicilinas. Su actividad frente a cocos gramnegativos, *Neisseria* y *Haemophilus* es escasa. Son útiles frente a *E. coli, Shigella, Salmonella, Klebsiella, Enterobacter* y *Citrobacter* y tienen una eficacia variable frente a *Proteus*. Actúan sinérgicamente junto con penicilinas y cefalosporinas.

6α-Metoxipenicilinas. La introducción de un radical metoxi en posición 6α determina, por un lado, la resistencia a las β-lactamasas, pero condiciona, por otra parte, que estos antimicrobianos no presenten actividad frente a bacterias grampositivas. Hasta el momento sólo se dispone de un preparado con utilidad clínica, la temocilina, que es un derivado de la ticarcilina. Muestra una buena actividad frente a enterobacterias (las que presentan mayores resistencias son *Enterobacter* spp. y *Serratia marcescens*), *Haemophilus* spp. y *Neisseria gonorrhoeae*. La temocilina no es activa frente a grampositivos, bacterias anaerobias, *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter anitratus*.

Cefalosporinas

Las cefalosporinas utilizadas en clínica son antibióticos semisintéticos derivados de la cefamicina C, producida por *Cephalosporium*. Químicamente constan de dos anillos, uno lactámico y otro dihidrotiazínico. Las modificaciones en la posición 7 del anillo β-lactámico determinan el espectro antibacteriano, y las realizadas en la posición 3 del anillo dihidrotiazínico modifican la farmacocinética y metabolismo del medicamento.

El mecanismo de acción y resistencia es el descrito para los β-lactámicos en general. Pero, además, por lo que respecta a resistencia, puede aparecer por hidrólisis por β-lactamasas o impermeabilización, impidiendo que el anti-

biótico llegue al lugar de acción. En las cefalosporinas se ha descrito un fenómeno de tolerancia, que consiste en que las bacterias no son lisadas, sino que sólo se inhibe su crecimiento, es decir, una actividad bacteriostática. Las acciones adversas provocadas por las cefalosporinas se resumen en la tabla 12-5 resaltando el poder nefrotóxico de la cefaloridina, que a partir de 4 g/día produce necrosis tubular. La nefrotoxicidad potencial de las cefalosporinas aumenta cuando se asocian con aminoglicósidos.

Las cefalosporinas que tienen en posición 3 un radical tiometiltetrazolio (cefamandol, cefmenoxina, cefoperazona, cefmetazol, cefotetan, moxalactam) se han implicado en la producción de coagulopatías reversibles con vitamina K y reacción tipo disulfiram.

Clasificación, espectro e indicaciones clínicas. La clasificación de las cefalosporinas de uso clínico en el hombre se hace sobre la base de la sensibilidad o no a las β-lactamasas, circunstancia que va acompañada de modificaciones en el espectro (tabla 12-6).

Dentro de las cefalosporinas más antiguas, sensibles a las β-lactamasas, aparecen los siguientes grupos:

Inestables metabólicamente. Son modificadas por las esterasas del organismo y transformadas en metabolitos menos activos. Deben utilizarse por vía intravenosa, pues la inyección intramuscular es muy dolorosa. Son ácido-lábiles. La más utilizada ha sido la cefalotina.

Estables metabólicamente. No son metabolizadas por las esterasas orgánicas. Se pueden administrar por vía IM o IV y son ácido-lábiles. De este grupo, dada la toxicidad de la cefaloridina, se aconseja el empleo de la cefazolina.

Orales. No son ácido-lábiles. Cefaclor, cefadroxil y cefatricina son las cefalosporinas más modernas y tienen más actividad, es decir, inhiben las bacterias con concentraciones mínimas inhibitorias más bajas. La cefradina y alguna sal de la cefalexina pueden utilizarse por vía parenteral.

Todas tienen una gran actividad frente a los cocos aerobios, con excepción del enterococo, incluidos *Staphylococcus aureus* productor o no de β-lactamasas y *Staphylococcus epidermidis*. Su espectro frente a los bacilos gramnegativos es semejante al de la ampicilina (*E. coli, Salmonella, Proteus mirabilis* y *Shigella*), salvo que son activas frente a *Klebsiella*. Carecen de actividad frente a *Haemophilus influenzae*, excepto el cefaclor, que sí presenta acción frente a este microorganismo. Tienen actividad frente a anaerobios, a excepción de *Bacteroides fragilis*.

Tabla 12-5. Reacciones adversas de las cefalosporinas

Reacciones de hipersensibilidad
Anafilaxia
Rash cutáneo
Enfermedad del suero
Toxicidad hematológica
Test de Coombs positivo
Hemólisis
Coagulopatías
Disfunciones plaquetarias
Reacciones tipo disulfiram
Nefrotoxicidad

Tabla 12-6. Clasificación de las cefalosporinas

Sensibles a las β-lactamasas	Resistentes a las β-lactamasas
Inestables metabólicamente	Cefamandol
Cefalotina	Cefuroxima
Cefapirina	Cefoperazona
Cefacetrilo	Cefsulodina
Estables metabólicamente	
Cefaloridina	Cefotaxima
Cefazolina	Ceftizoxima
Ceforanida	Ceftriaxón
Orales	Ceftazidima
Cefaloglicina	
Cefalexina	
Cefradina	
Cefaclor	
Cefadroxil	
Cefatricina	

Estas cefalosporinas son el antibiótico de elección para el tratamiento de infecciones por *Klebsiella*. Son fármacos alternativos de las penicilinas en caso de alergia a éstas. Se pueden emplear en neumonías extra e intrahospitalarias (en estas últimas unidas a aminoglicósidos) y en cualquier otro proceso provocado por agentes sensibles. Por su actividad son excelentes antiestafilocócicos. Las cefalosporinas orales se emplean, sobre todo, en infecciones de vías respiratorias. En profilaxis en cirugía, especialmente en cirugía cardiaca para evitar la implantación de estafilococos en las prótesis y también en la abdominal, ginecológica, urológica o en traumatología, pueden emplearse estas cefalosporinas consideradas de primera generación. El cefaclor por su ligera resistencia a las β-lactamasas se le considera de 2.ª generación.

En el grupo de las cefalosporinas resistentes a las β-lactamasas podemos diferenciar tres apartados en relación con su espectro de actividad:

Cefamandol y cefuroxima. El primero tiene sólo una resistencia parcial de las β-lactamasas. Con relación a las cefalosporinas sensibles a las β-lactamasas, su espectro se amplía a *Enterobacter, Proteus* indol-positivos, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae* (especialmente la cefuroxima). Su actividad en general frente a cocos grampositivos es menor. Junto a las cefamicinas integran las cefalosporinas de segunda generación.

Cefsulodina y cefoperazona. Son cefalosporinas de aplicación frente a *Pseudomonas aeruginosa*. La cefsulodina es, además, eficaz frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* y la cefoperazona engloba en su espectro los gérmenes citados para cefamandol y cefuroxima.

Cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima y ceftizoxima (aminotiazol-oximacefalosporinas). La primera es inestable metabólicamente. Al espectro de las cefalosporinas resistentes a las β-lactamasas del primer grupo se unen: *Citrobacter, Serratia* y algunas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (de manera especial ceftazidima). Inhiben alrededor del 50 % de las cepas de *Bacteroides* del grupo *fragilis* y no son activas frente a enterococos. Estos dos últimos grupos, junto con moxalactam, integran las cefalosporinas de tercera generación. Las aminotiazol-oxima-cefalosporinas atraviesan la barrera hematoencefálica y constituyen un avance signi-

ficativo en el tratamiento de la meningitis por bacilos gramnegativos aerobios y facultativos.

Por su actividad, estos antimicrobianos deben utilizarse sólo en hospitales y seleccionarse de acuerdo con un antibiograma previo. Las situaciones clínicas que determinan su uso estarán en relación con el agente etiológico y su sensibilidad.

De las nuevas cefalosporinas destacan cefpiroma y BMY 28142, consideradas como de 4.ª generación por su mayor actividad frente a grampositivos y gramnegativos.

Cefamicinas ó 7-metoxi-cefalosporinas

Cefoxitina y cefmetazol son antibióticos semisintéticos derivados de la cefamicina C, producida por *Streptomyces lactamadurans*. Se diferencian de las cefalosporinas por presentar un radical metoxi en posición 7α, que condiciona la resistencia, las β-lactamasas y la estabilidad metabólica. Con relación a la cefalotina, su espectro abarca además *Citrobacter, Proteus* indol-positivos, *Serratia marcescens* y *Bacteroides fragilis*. No suelen ser activos frente a *Enterobacter* y el cefmetazol en general tiene una actividad similar a la cefoxitina. Más recientes son cefotetan y cefbuperazona, que tienen más actividad (salvo frente a *Bacteroides fragilis*) y mejor farmacocinética.

Su utilización clínica, como en el caso de las cefalosporinas resistentes a las β-lactamasas, debe limitarse al hospital y aquellas situaciones en que los agentes etiológicos implicados sean sensibles. Es necesario resaltar su importante papel en las infecciones por anaerobios gracias a su actividad frente a *Bacteroides fragilis* y especies afines.

Clavaminas

Dentro de este grupo, la sustancia más estudiada es el ácido clavulánico producido por *Streptomyces clavuligerus*. Químicamente consta de un anillo oxazolidínico unido a otro β-lactámico. Las cadenas laterales surgen del carbono en posición 2. Tiene escasa actividad antimicrobiana, pero es un potente inhibidor de algunas β-lactamasas. Se ha demostrado acción sinérgica en combinaciones con ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina, penicilina G, cefalotina, cefaloridina y cefazolina.

La combinación de ácido clavulánico (1 parte) y amoxicilina (4 partes) es eficaz frente a cepas productoras de β-lactamasas de *Staphylococcus aureus, E. coli, Klebsiella* y *B. fragilis*. Se ha comprobado su utilidad clínica en infecciones urinarias, cutáneas y de tejidos blandos, producidas por microorganismos resistentes a la ampicilina.

Además del ácido clavulánico, existen otros β-lactámicos que son inhibidores de las β-lactamasas. El más utilizado es la sulfona del ácido penicilánico o sulbactam, que se emplea habitualmente asociada a ampicilina por vía parenteral o como prodroga mixta, conjuntamente con la ampicilina, por vía oral (sultamicilina).

Los ácidos 6-β-halopenicilánicos (6-β-cloro, 6-β-bromo y 6-β-yodo) son también inhibidores de las β-lactamasas. Todos estos preparados tienen una actividad antimicrobiana intrínseca baja.

Algunos antimicrobianos β-lactámicos con gran actividad antibacteriana son a su vez potentes inhibidores de las β-lactamasas, como sucede con las cefamicinas e imipenem.

Carbapeneminas

Incluimos aquí los ácidos oliváncos producidos por *Streptomyces olivaceus* y la tienamicina producida por *Streptomyces cattleya*. De éstos, el más estudiado es la tienamicina, que tiene un espectro que abarca grampositivos, incluido *Staphylococcus aureus* productor de β-lactamasas, y gramnegativos, incluidos *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacteroides fragilis*. Dado que esta sustancia es inestable, se ha conseguido un derivado que carece de este problema, la N-formimidoil-tienamicina (MK 0787) o imipenem. Este antimicrobiano es sensible a una dipeptidasa renal, por lo que se administra junto con un inhibidor como cilastatina. Imipenem + cilastatina se administran por vía parenteral y ya se han introducido para su uso clínico.

Oxacefeminas

Químicamente, el núcleo es semejante a las cefamicinas, salvo que el azufre del anillo dihidrotiazínico ha sido sustituido por oxígeno.

El único representante de este grupo es el moxalactam, que tiene una gran actividad frente a bacterias gramnegativas, resistentes a otros β-lactámicos. Su espectro y actividad es semejante al de la cefotaxima, pero es más eficaz frente a *Bacteroides* del grupo *fragilis*. Su actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* es moderada y frente a *Staphylococcus aureus* es poco importante. Por sus efectos secundarios, principalmente sobre la coagulación, su uso está muy restringido.

Monobactámicos

Los antibióticos monocíclicos son obtenidos de forma natural a partir de bacterias (*Chromobacterium, Agrobacterium, Flexibacteria, Nocardia*, etc.). De los monobactámicos naturales se han obtenido otros por síntesis, que son los que se utilizan en clínica. Estos preparados tienen radicales que determinan su resistencia a β-lactamasas y actividad frente a gramnegativos. Hasta el momento se dispone en clínica de dos preparados, el aztreonam (obtenido por síntesis) y el carumonam (derivado del sulfacezín). Ambos tienen un espectro y actividad semejantes, y actúan exclusivamente frente a bacterias gramnegativas aerobias o facultativas; el carumonam es ligeramente más activo frente a *Pseudomonas aeruginosa*. No obstante, la experiencia clínica es más dilatada con aztreonam, que se presenta como alternativa a los aminoglicósidos.

Aminociclitoles

Es un grupo caracterizado químicamente porque los antibióticos que lo integran son alcoholes cíclicos aminados. En la tabla 12-7 se presenta la clasificación de estos fármacos, con dos grupos claramente definidos. En el primero sólo existe un representante, la espectinomicina, y el segundo está constituido por los aminoglicósidos. Estos últimos se caracterizan por tener dos o más aminoazúcares unidos a una hexosa central por un enlace glicosídico. En relación a la hexosa central, hay a su vez dos subclases, los que po-

Tabla 12-7. Clasificación de los aminociclitoles

I. *Espectinomicina*

II. *Aminoglicósidos*
1. Estreptidinas
   Estreptomicina
2. 2-Desoxiestreptaminas
   Familia de la neomicina
   Neomicina
   Paromomicina
   Aminosidina
   Ribostamicina
   Familia de la kanamicina:
   Kanamicina A, B, C
   Kanendomicina
   Tobramicina
   Dibekacina (DKB)
   Amikacina
   Familia de la gentamicina:
   Gentamicina C_1, C_{1a}, C_2
   Sisomicina
   Netilmicina

seen estreptidina y los que tienen 2-desoxiestreptamina. Dentro de esta última hay tres familias: la de la neomicina con tres aminoazúcares y la de la kanamicina y gentamicina con dos, y uno de ellos es, respectivamente, glucosamina y garosamina.

Espectinomicina

Se obtiene a partir de *Streptomyces spectabilis*. Dentro de su espectro están incluidos los bacilos gramnegativos, con el inconveniente de que desarrollan rápidamente resistencias a él. La base para la utilización en clínica es su actividad frente a *Neisseria gonorrhoeae*. Su acción es bacteriostática por inhibición de la síntesis proteica en los ribosomas 30S. La resistencia que desarrollan las bacterias puede ser cromosómica, por una mutación que inhibe la unión a los ribosomas 30S, o extracromosómica, por plásmidos que codifican enzimas adenilantes. Clínicamente está indicada en uretritis, cervicitis y proctitis gonocócicas, y en casos de alergia o fallos de la penicilina. Se emplea en dosis únicas exclusivamente.

Aminoglicósidos

El origen de estos antibióticos es natural o semisintético. Entre estos últimos están la dibecacina y kanendomicina (derivado de la kanamicina B), la amikacina (de la kanamicina A) y la netilmicina (de la sisomicina). En la tabla 12-8 se reflejan las características de los aminoglicósidos.

Su espectro de actividad abarca la práctica totalidad de enterobacterias y estafilococos y carecen de acción frente a otros cocos grampositivos y bacterias anaerobias. La gentamicina, tobramicina, sisomicina, dibecacina, netilmicina y amikacina tienen actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* y algunos otros bacilos no fermentadores de la glucosa. Este espectro se ve reducido por la aparición de cepas resistentes, que son muy numerosas en la familia de la neomicina y en la kanamicina (existe resistencia cruzada entre ellos) y menos a menudo en la gentamicina, sisomicina, tobramicina y dibekacina, que tienen un espectro casi idéntico y resistencia cruzada. No obstante, hay excepciones, así, la tobramicina es eficaz frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a la gentamicina, y ésta es más eficaz que aquélla frente a *Serratia*. La sisomicina es prácticamente idéntica a la gentamicina, salvo una actividad ligeramente superior en razón al peso y en presencia de suero, y frente a *Proteus* indol-positivos y *Pseudomonas aeruginosa*. La netilmicina tiene una actividad semejante a la gentamicina, pero resiste a las enzimas adenilantes. Es menos activa frente a *Serratia* y *Pseudomonas aeruginosa*.

La amikacina, sobre la base de su resistencia a las enzimas detoxicantes, es el aminoglicósido de mayor espectro y efectividad.

Ningún aminoglicósido se absorbe de forma significativa por vía oral, y es necesario administrarlos por vía parenteral. Algunos son muy tóxicos, como la neomicina, y sólo pueden aplicarse en forma tópica. Las vías de administración que pueden ser utilizadas son: IM, IV, intratecal e intraventricular, intraperitoneal, oral, cutánea, conjuntival y respiratoria por aerosoles.

Este grupo de fármacos tienen un potencial tóxico importante, con efectos nocivos que se recogen en la tabla 12-9. De todos ellos, los más frecuentes y graves son la ototoxicidad, nefrotoxicidad y bloqueo neuromuscular.

La toxicidad en el VIII par craneal afecta tanto la rama vestibular como la coclear, si bien el grado de afectación de cada una de estas ramas varía según el fármaco. Así, la estreptomicina, gentamicina y sisomicina tienen fundamentalmente una toxicidad vestibular, mientras que la de la kanamicina, neomicina y amikacina es básicamente acústica. La tobramicina presenta una toxicidad semejante en ambas ramas. La ototoxicidad está en relación con la edad del paciente, dosis del antimicrobiano, duración de la terapéutica, daño renal preexistente, administración previa de otros aminoglicósidos, asociación con otros fármacos ototóxicos, etc. El antimicrobiano del grupo menos ototóxico parece ser la metilmicina.

En el riñón, los aminoglicósidos producen necrosis tubular y daño intersticial. El potencial nefrotóxico de los aminoglicósidos es por orden de frecuencia: neomicina, gentamicina, sisomicina, kanamicina y amikacina, y tobramicina. La estreptomicina tiene una toxicidad renal muy baja. Favorecen la aparición de este efecto secundario la gravedad de la infección, la edad, dosis y duración, la preexistencia de daño renal, la hipotensión y la asociación con otros fármacos nefrotóxicos, como la cefaloridina.

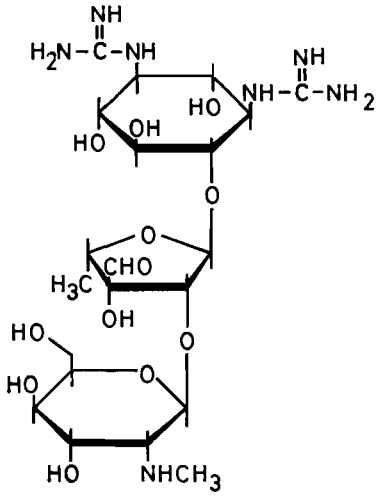
Todos estos fármacos producen un bloqueo neuromuscular especialmente en la anestesia o en la aplicación de bloqueantes neuromusculares, o en enfermedades como la *miastenia gravis* y a veces podrán provocar un paro respiratorio. Los que se administran por vía oral, como la neomicina y kanamicina, pueden desencadenar síndromes de malabsorción. El resto de acciones secundarias son muy raras.

En la tabla 12-10 se recogen las indicaciones clínicas de los aminoglicósidos. Aunque la estreptomicina tiene actividad frente a otros bacilos gramnegativos, no se utiliza por la frecuencia con que éstos desarrollan resistencia. En las endocarditis por enterococos o estreptococos *viridans* se asocia a penicilina o ampicilina y, en caso de alergia a éstas, con vancomicina.

Tabla 12-8. Aminoglicósidos

Clasificación

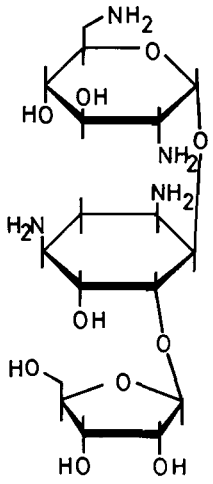
I. Estreptidinas



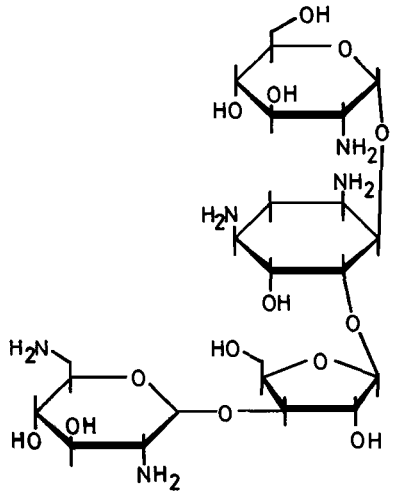
Estreptomicina

II. 2-Desoxiestreptaminas

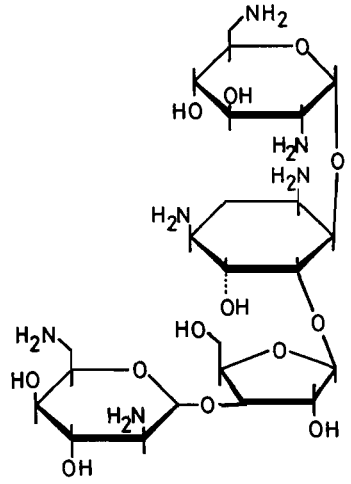
1. Familia de la neomicina



Ribostamicina

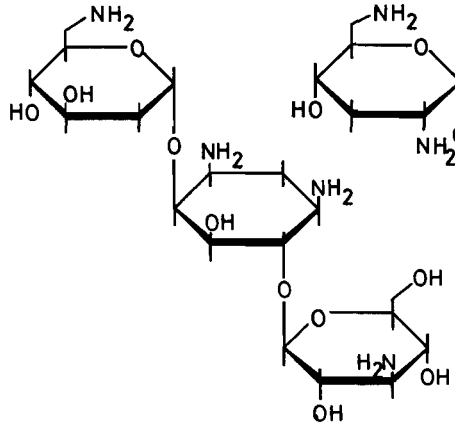


Neomicina

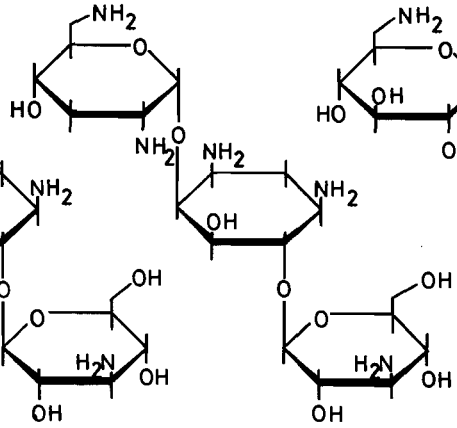


Paromomicina

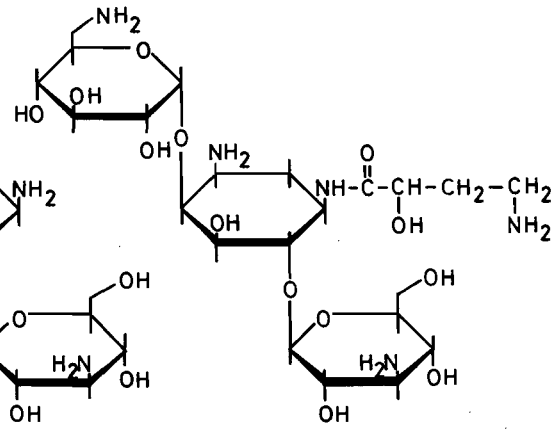
2. Familia de la kanamicina



Kanamicina A



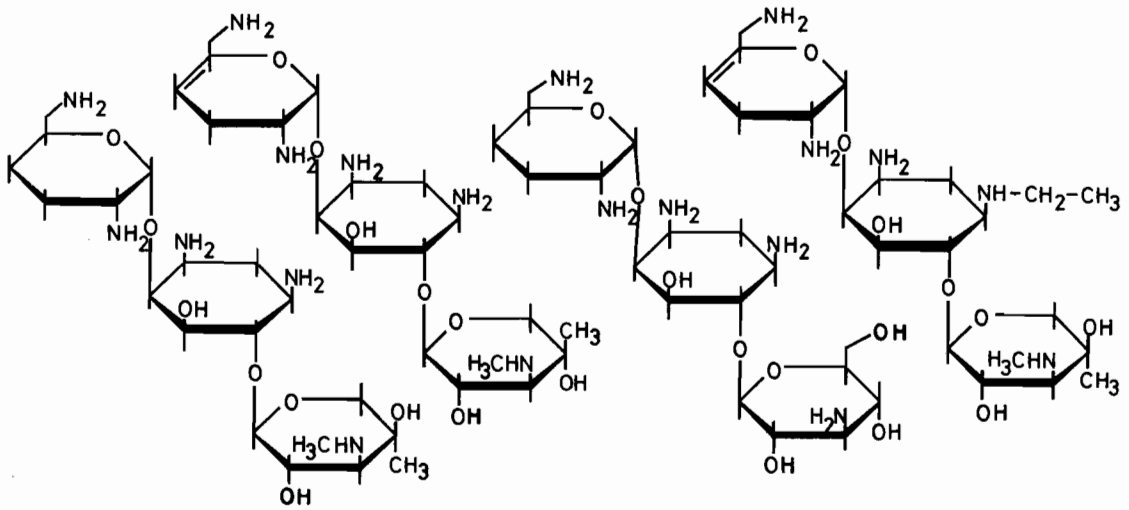
Tobramicina



Amikacina

Tabla 12-8. *(Continuación.)*

3. Familia de la gentamicina



Gentamicina C_{1a} Sisomicina Dibekacina Netilmicina

Características

1. Químicas: aminoazúcares unidos a hexosas
2. Microbiológicas: actividad frente a *Staphylococcus* y bacilos gramnegativos aerobios y facultativos
3. Mecanismo de acción: bactericida, inhibición de la síntesis proteica
4. Efectos adversos: sobre todo nefro y ototoxicidad
5. Resistencia: principalmente plasmídica por producción de enzimas detoxicantes

Tabla 12-9. Efectos secundarios de los aminoglicósidos

- Ototoxicidad
- Nefrotoxicidad
- Bloqueo neuromuscular
- Reacciones de hipersensibilidad
  - Prurito
  - Rash cutáneo
  - Fiebre
  - Anafilaxia
- Reacciones locales
  - Edema
  - Dolor
- Síndromes de malabsorción
- Elevación de las transaminasas
- Reacciones hematológicas
  - Anemia aplásica
  - Agranulocitosis
  - Disminución del factor V
- Sobreinfecciones
  - Enterocolitis estafilocócicas

La neomicina y kanamicina se utilizan fundamentalmente en la profilaxis previa a la cirugía del colon mediante pautas cortas, con el fin de reducir el número de bacterias aerobias y facultativas de esta parte del intestino. Se administrarán con un fármaco que tenga actividad frente a anaerobios, como la eritromicina, y habremos de combinarlo con limpieza mecánica. En la aplicación por vía tópica, la neomicina se suele asociar con bacitracina o polimixina B, o ambas.

Tabla 12-10. Indicaciones clínicas del uso de aminoglicósidos

Estreptomicina
- Tularemia
- Peste
- Brucelosis
- Tuberculosis
- Endocarditis por enterococos o estreptococos *viridans*

Neomicina, paromomicina, kanamicina, aminosidina, ribostamicina
- Infecciones cutáneas
- Enfermedades diarreicas por *E. coli* y *Shigella*
- Preparación del colon en cirugía
- Coma hepático
- Disentería amebiana leve y portadores (paromomicina, aminosidina)
- Infecciones urinarias, previo antibiograma (kanamicina, aminosidina, ribostamicina)
- Teniasis (paromomicina)

Gentamicina, tobramicina, sisomicina, dibekacina, netilmicina (previa determinación de la sensibilidad)
- Bacteriemias y sepsis
- Endocarditis por enterococos
- Infecciones
  - Pulmonares
  - Urinarias
  - Abdominales
  - De heridas
  - Oseas y articulares
  - Obstetro-ginecológicas
- Meningitis, etc.

Amikacina
- Infecciones graves resistentes a otros aminoglicósidos

Este grupo de fármacos se ha empleado en el tratamiento del coma hepático, en enfermos con insuficiencia de esta víscera por cirrosis u otras circunstancias clínicas, fundamentado en el hecho de que la disminución de la flora comporta una menor absorción de sustancias nitrogenadas, que, al no ser detoxicadas por el hígado, contribuyen a la instauración de aquel cuadro.

La paromomicina se ha usado como fármaco alternativo en el tratamiento de las teniasis.

La gentamicina y los fármacos que comparten su espectro de acción han sido durante muchos años el tratamiento de elección de procesos infecciosos graves. En la actualidad, con la aparición de resistencias, es necesario determinar previamente la sensibilidad de las bacterias. En las infecciones urinarias, los aminoglicósidos son inactivos cuando se alcaliniza la orina. En las endocarditis por enterococos, la gentamicina es más activa que la estreptomicina, por lo que debe sustituirse y asociarse con ampicilina o, en caso de alergia, con vancomicina. En el período neonatal, estos fármacos atraviesan la barrera hematoencefálica y se han utilizado en los tratamientos de meningitis y ventriculitis por gramnegativos, asociando la administración general a la intratecal e intraventricular. También se emplean en meningitis del adulto por bacterias resistentes a fármacos que atraviesan esta barrera y se administran por vía intratecal. El desarrollo de las cefalosporinas de tercera generación ha relegado a un segundo plano estas indicaciones.

El uso de la amikacina ha de ser limitado al hospital y restringirse a infecciones graves por bacterias resistentes a otros fármacos, enfermos con deficiencias inmunitarias, pacientes con enfermedades subyacentes y salas críticas como la UCI, etc. Su uso generalizado ha condicionado lamentablemente la aparición de numerosas resistencias. Se aconseja no emplearla de entrada en las infecciones urinarias, salvo que sean resistentes a otros fármacos.

Polipéptidos o polipeptídicos

Constituyen un grupo heterogéneo de antibióticos que presentan, no obstante, rasgos comunes: estructura química de polipéptidos, la mayoría cíclicos, resistencia a la inactivación por enzimas proteolíticas, falta de absorción oral y alto potencial nefrotóxico.

Tienen un espectro variable; algunos son activos básicamente frente a grampositivos (vancomicina, bacitracina, tirotricina y ristocetina), otros, frente a gramnegativos (polimixina) y otros, frente a micobacterias (capreomicina y viomicina).

En la tabla 12-11 aparecen relacionados los principales antibióticos de este grupo. La tirotricina (una mezcla de gramicidina, 20 %, y de tirocidina, 80 %) y la ristocetina carecen de interés práctico en este momento. La viomicina y capreomicina se tratarán en el capítulo de la tuberculosis.

Tabla 12-11. Antibióticos polipeptídicos

Polimixinas
Vancomicina
Bacitracina
Viomicina y capreomicina
Tirotricina: gramicidina + tirocidina
Ristocetina

Polimixinas

Químicamente, estos antimicrobianos son polipéptidos cíclicos básicos. Existen cinco tipos: A, B, C, D y E. Por su elevada toxicidad se utilizan en clínica solamente las polimixinas B y E (esta última también se denomina colistina o colimicina). Son producidos por especies de *Bacillus polymyxa* y se utilizan en forma de sales, como sulfato de polimixina B o colistina en la aplicación tópica u oral, y como metasulfonato de colistina (colistimetato) por vía parenteral, sal que se hidroliza en el organismo liberando colistina libre (tabla 12-12).

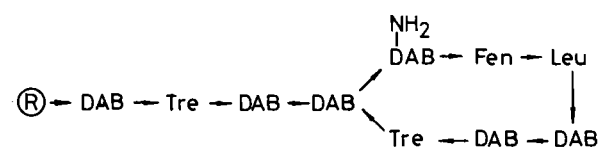
Las polimixinas carecen de actividad frente a las bacterias grampositivas. En su espectro de acción están incluidas las enterobacterias (salvo *Proteus*, *Providencia* y *Serratia*) y *Pseudomonas aeruginosa*, que constituye el pilar fundamental para su utilización clínica. También son activas frente a *Vibrio*, *Pasteurella*, *Haemophilus* y *Bordetella* e inactivas frente a *Brucella*, *Neisseria* y anaerobios.

Son bactericidas y actúan como detergentes catiónicos uniéndose a los fosfolípidos de la membrana citoplásmica, desorganizándola y aumentando la permeabilidad, lo que provoca el efecto letal. La resistencia surge por impermeabilización que evita que el fármaco alcance la membrana citoplásmica. Existe resistencia cruzada entre la polimixina B y la colistina. Los efectos secundarios que puede ocasio-

Tabla 12-12. Polimixinas

Clasificación

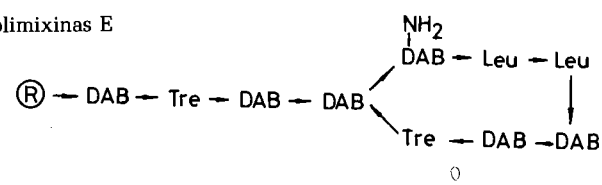
Polimixinas B



Polimixina B_1 R = AMO*

Polimixina B_2 R = AIO**

Polimixinas E



Polimixina E_1 (colistina A) R = AMO*

Polimixina E_2 (colistina B) R = AIO**

Características

1. Químicas: polipéptidos cíclicos básicos obtenidos biológicamente
2. Microbiológicas: activas frente a gram−
3. Mecanismo de acción: bactericida, desorganizan la membrana citoplásmica
4. Efectos adversos: fundamentalmente nefro y neurotoxicidad

*AMO = ácido D-6-metiloctanoico.
**AIO = ácido isooctanoico.

nar la administración de estos antibióticos están referidos en la tabla 12-13.

La polimixina B es más tóxica que la colistina, especialmente que el metasulfonato de colistina. Los efectos secundarios más importantes se localizan en el sistema nervioso y el riñón, y son raros en el resto. Los efectos neurotóxicos se manifiestan por: parestesias periorales y periféricas, irritabilidad, debilidad, vértigo, ataxia, bradipsiquia y bradilalia, somnolencia o confusión y rubor. Asimismo poseen acción curarizante al bloquear la transmisión neuromuscular y pueden ocasionar apnea, especialmente cuando se asocian con anestésicos o miorrelajantes o se administran a enfermos con *miastenia gravis*. Estos efectos son reversibles. El daño renal puede manifestarse por aumento de la creatinina sérica, hematuria, proteinuria y cilindruria, y llegar a necrosis tubular y anuria. La nefrotoxicidad aumenta cuando se asocian con otros fármacos también activos sobre el riñón, como cefalosporinas y aminoglicósidos.

Clínicamente, las polimixinas son antibióticos de segunda elección, debido a que en la actualidad se han desarrollado nuevos antimicrobianos más activos y menos tóxicos. En nuestro país se emplea, por vía parenteral, el metasulfonato de colistina y, por vía tópica, el sulfato de colistina o de polimixina B. En situaciones clínicas graves se han obtenido resultados no demasiado satisfactorios y, por tanto, sólo deben aplicarse: en infecciones graves producidas por *Pseudomonas aeruginosa* u otros bacilos gramnegativos resistentes a otros antibióticos, o bien en pacientes con hipersensibilidad a otros fármacos.

Por vía general se emplean especialmente en infecciones urinarias, vigilando siempre el estado renal. En meningitis por bacterias resistentes a otros antibióticos se utiliza la vía intratecal. Por aerosol se usan para tratar o prevenir infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* en enfermos con fibrosis quísticas o bronquiectasias o pacientes ingresados en la unidad de vigilancia intensiva de los hospitales. Por vía digestiva se emplean para procesos provocados por *E. coli*. La vía tópica se emplea para infecciones oculares o de heridas, otitis externas o prevención de infecciones urinarias en personas con sonda permanente (lavados vesicales). En algunos casos se asocian con neomicina y bacitracina.

Tienen un efecto sinérgico con el cotrimoxazol frente a *Serratia, Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas maltophilia*, resistentes a otros medicamentos. Este efecto se ha demostrado también en *Serratia* cuando se combinan con rifampicina.

Vancomicina y teicoplanina

La vancomicina es un antimicrobiano de naturaleza glicopeptídica producido por *Streptomyces orientalis*. Su espectro abarca gérmenes grampositivos: *Staphylococcus*, estreptococos (incluido enterococo), cocos anaerobios y microaerófilos y bacilos grampositivos aerobios (*Bacillus, Corynebacterium*, etc.) y anaerobios (*Clostridium*).

Es un antibiótico bactericida que actúa inhibiendo, durante la fase activa de crecimiento bacteriano, la síntesis de la pared celular.

En la tabla 12-14 aparecen reflejadas las acciones adversas, y las más frecuentes son la fiebre y la toxicidad acústica que causa sordera. Por su toxicidad local produce dolor y necrosis muscular; es necesario administrarla por vía IV u oral para el tratamiento tópico de infecciones digestivas, ya que no se absorbe por esta vía.

Tabla 12-13. Efectos adversos a las polimixinas

Neurotoxicidad*
Nefrotoxicidad*
Reacciones de hipersensibilidad
Fiebre
Rash cutáneo
Anafilaxia
Efectos locales
Dolor a la inyección
Alteraciones digestivas
Diarrea leve
Alteraciones de la flora

*Frecuentes.

Su utilización en clínica está determinada por su poder antiestafilocócico y, por ello, debe usarse en infecciones graves por estos microorganismos resistentes a otros fármacos o en casos de hipersensibilidad por parte del paciente a éstos. En endocarditis por enterococo o estreptococos *viridans* y en pacientes alérgicos a la penicilina, se aplicará asociada a un aminoglicósido, sobre todo gentamicina. Es de destacar su eficacia en las colitis pseudomembranosas, producidas tanto por estafilococos como por *Clostridium difficile*.

Por último, se utilizará en la profilaxis de las endocarditis, en pacientes predispuestos alérgicos a la penicilina y que van a ser sometidos a manipulaciones dentarias (conjuntamente con eritromicina) o intervenciones o manipulaciones respiratorias (con eritromicina), digestivas, obstetroginecológicas o urinarias (con estreptomicina). La teicoplanina como la vancomicina es un glicopéptido y ha sido obtenida de *Actinoplanes teichomycetus*. Su espectro y mecanismo de acción son semejantes a los de vancomicina, pero el mecanismo de acción es más activo, principalmente frente a enterococos. Se puede administrar por vía intramuscular y no se ha demostrado oto o nefrotoxicidad. Las indicaciones de su uso son superponibles a las de vancomicina.

Bacitracina

Químicamente es un polipéptido con un anillo tiazolínico. Es producido por *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis* y tiene un espectro semejante al de la penicilina: actúa sobre cocos y bacilos grampositivos, *Neisseria* y *Treponema pallidum*. Es bactericida, inhibiendo la síntesis de la pared celular, al evitar la liberación del fosfolípido que transporta las unidades estructurales de aquélla a través de la membrana citoplásmica. Por su poder nefrotóxico (provoca necrosis del glomé-

Tabla 12-14. Efectos adversos de la vancomicina

Neurotoxicidad acústica
Fiebre
Hormigueos
Escalofríos
Tromboflebitis
Nefrotoxicidad
Reacciones de hipersensibilidad
Erupción (rash cutáneo)
Eosinofilia
Neutropenia

rulo y túbulo), sólo se utiliza para tratar infecciones cutáneas, asociada con neomicina o polimixina B, o ambas. Dada su actividad frente a *Clostridium difficile* se utiliza como alternativa de vancomicina en el tratamiento de la colitis pseudomembranosa.

Tetraciclinas

Esta familia de antibióticos se define químicamente en que su estructura básica es un núcleo de hidronaftaceno. Dicho núcleo consta de cuatro anillos unidos y de ahí deriva el nombre genérico de estos fármacos. Los distintos componentes de este grupo se diferencian entre sí por los diferentes radicales, que puede contener el grupo químico básico. En relación con la vida media, las tetraciclinas se dividen en tres grupos (tabla 12-15). Tienen un origen biológico o semisintético y algunas de ellas pueden obtenerse por ambas vías. Son de origen biológico la clortetraciclina (*Streptomyces aureofaciens*), oxitetraciclina (*S. rimosus*), demetilclortetraciclina (una mutante de *S. aureofaciens*) y tetraciclina (*S. texasi*), que a su vez puede ser sintética. Por semisíntesis se obtienen la demetilclortetraciclina (que también puede tener origen biológico), metaciclina, doxiciclina y minociclina.

Se consideran todas ellas antibióticos de amplio espectro, aunque de actividad variable. Las más eficaces son minociclina y doxiciclina. Son activas frente a cocos y bacilos grampositivos y gramnegativos aerobios (la mayor parte de las cepas de *Bacteroides fragilis* son resistentes), espiroquetas, micoplasmas, rickettsias, clamidias y algunos protozoos (*Entamoeba hystolitica*). No obstante, su eficacia real ha disminuido debido a la aparición de cepas resistentes.

Son fármacos bacteriostáticos que penetran en las bacterias por un proceso activo dependiente de energía. Una vez en el interior de la bacteria, se unen reversiblemente a los ribosomas 30S, bloqueando el paso del aminoacil-ARNt al aceptor e inhibiendo así la síntesis proteica.

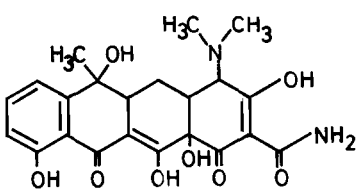
La resistencia a las tetraciclinas puede ser de tipo cromosómico (mutación) o extracromosómico (plasmídica). Existe resistencia cruzada entre todos los miembros del grupo, excepto en el caso de la minociclina con los estafilococos. La resistencia cromosómica aparece lentamente, en múltiples escalones. Este fenómeno se debe a alteración en la permeabilidad, que impide que estos antibióticos alcancen concentraciones eficaces en el interior de las bacterias. Probablemente se deba a impermeabilización por pérdida o alteración de una proteína que actúa como permeasa, ya que la penetración de las tetraciclinas es un fenómeno activo. También se ha invocado un aumento de permeabilidad, que impediría por un mecanismo continuado de entrada y salida alcanzar en el interior concentraciones útiles para ejercer su acción.

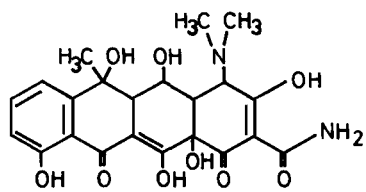
En la tabla 12-16 se enumeran los efectos secundarios de las tetraciclinas y se señala que los más frecuentes son los gastrointestinales por irritación y las alteraciones en la co-

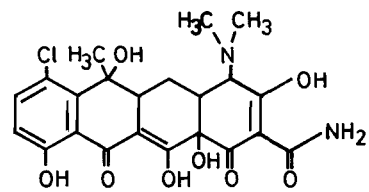
Tabla 12-15. Tetraciclinas

Clasificación

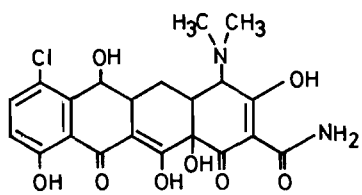
1. Vida media corta

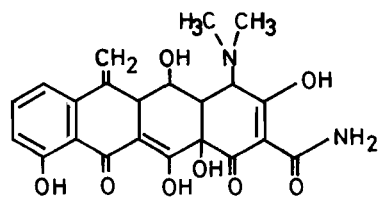

Tetraciclina

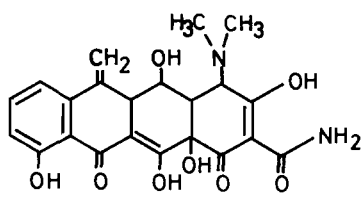

Oxitetraciclina


Clortetraciclina

2. Vida media intermedia


Demetilclortetraciclina


Metaciclina


Doxiciclina

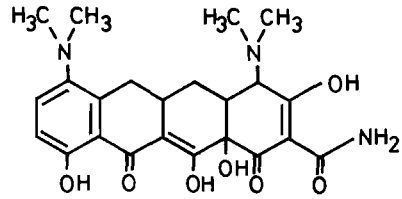

Minociclina

Tabla 12-16. Efectos adversos producidos por las tetraciclinas

Cutáneos
- Fotosensibilización (especialmente con demetilclortetraciclina)
- Erupciones
- Lupus eritematoso simulado

Reacciones de hipersensibilidad
- Erupciones
- Urticaria
- Anafilaxia
- Edema periorbitario

Gastrointestinales
- Glositis
- Estomatitis
- Ulceras esofágicas
- Náuseas y vómitos
- Diarreas
- Proctitis

Hepáticos
- Alteración de las pruebas funcionales hepáticas
- Degeneración grasa (especialmente en embarazadas)

Renales
- Agravación de insuficiencia renal previa
- Síndrome de Fanconi (tetraciclinas caducadas)
- Diabetes insípida nefrógena (demetilclortetraciclina)
- Fallo renal de cirróticos

Neurológicos
- Hipertensión intracraneal
- Vértigo (minociclina)

Dentales y óseos
- Decoloración y coloración gris marrón (por administración de tetraciclinas en 2.ª mitad del embarazo y primeros 5 años de vida)
- Retraso en el crecimiento

Sobreinfecciones
- Candidiasis
- Estafilococias
- Bacilos gramnegativos multirresistentes

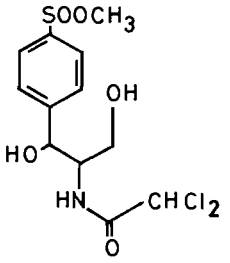
Tabla 12-17. Indicaciones de las tetraciclinas

Fármacos de elección en	Fármacos alternativos en
Brucelosis (junto con estreptomicina)	Acné
Cólera	Actinomicosis
Fiebre recurrente	Bronquitis crónica (exacerbaciones agudas)
Granuloma inguinal (*Calymmatobacterium granulomatis*)	Uretritis gonocócica
Melioidosis	Carbunco
Tularemia	Chancro blando
Infecciones por Micoplasma (o eritromicina)	Fiebre por mordedura de rata
Rickettsias	Nocardiosis
Clamidias	Leptospirosis
Ornitosis-psitacosis	Sífilis
Linfogranuloma venéreo	Infecciones por
Uretritis inespecífica	*Listeria monocytogenes*
Tracoma	*Pasteurella multocida*
Conjuntivitis de inclusión	*Yersinia*
	Profilaxis de la meningitis (minociclina)

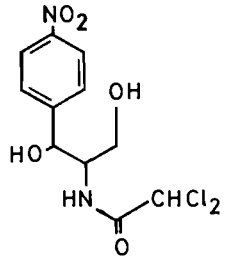
Tabla 12-18. Cloranfenicol y tianfenicol

Clasificación

Tianfenicol



Cloranfenicol



Características
1. Químicas:
   a) Cloranfenicol: derivado nitrobencénico natural y sintético
   b) Tianfenicol: derivado sulfometilbencénico sintético
2. Microbiológicas: amplio espectro frente a gram+ y gram–, espiroquetas, rickettsias, clamidias y micoplasmas
3. Mecanismo de acción: inhiben la síntesis proteica a nivel de los ribosomas 50S
4. Efectos adversos: hematológicos, síndrome gris, neurológicos
5. Resistencia: principalmente plasmídica por detoxicación

loración de los dientes y del crecimiento óseo en niños pequeños. En caso de insuficiencia renal se puede administrar la doxiciclina debido a que se elimina por vía intestinal.

En la tabla 12-17 se recogen las indicaciones primarias y secundarias del uso de las tetraciclinas, cuyo empleo en el momento actual debe restringirse a estas circunstancias bien definidas.

Cloranfenicol y tianfenicol

El cloranfenicol tiene una estructura química distinta a otros antibióticos: es un derivado nitrobencénico que fue obtenido a partir de *Streptomyces venezuelae* y posteriormente por síntesis química (es el primer antibiótico que se obtuvo por este procedimiento). El tianfenicol es un antibiótico sintético, que se diferencia químicamente del anterior por ser un derivado sulfometil-bencénico. Ambas sustancias son semejantes y se diferencian fundamentalmente en que el tianfenicol es menos activo, no se metaboliza y se elimina como tal por la bilis y orina (tabla 12-18).

Como las tetraciclinas, son antibióticos de amplio espectro, pues actúan frente a bacterias grampositivas y negativas, espiroquetas, rickettsias, clamidias y micoplasmas.

Son bacteriostáticos, aunque frente a *Haemophilus influenzae* se comportan como bactericidas. Inhiben la síntesis proteica y se unen reversiblemente con los ribosomas 50S. A este nivel impiden la formación de uniones peptídicas, bloqueando la actividad peptidiltransferásica. Existe una inhibición competitiva entre estos antibióticos y los

macrólidos y lincosamidas, probablemente porque todos tengan la misma proteína receptora a nivel ribosómico.

El mecanismo de resistencia más importante es por acetilación, catalizada por una acetiltransferasa, cuya producción está codificada por plásmidos R. También puede surgir resistencia por impermeabilidad, aunque menos a menudo. Otras bacterias, fundamentalmente anaerobias, resisten al cloranfenicol por inactivación de su radical nitroso.

Los efectos indeseables que pueden determinar la administración de estos fármacos se señalan en la tabla 12-19. De todos ellos, los más importantes son los hematológicos. La depresión de la medula ósea surge por la inhibición que estos antibióticos ejercen sobre la síntesis proteica mitocondrial. Es un fenómeno frecuente, está relacionado con las dosis y es reversible. Por el contrario, se pueden desencadenar, aunque rara vez, anemias aplásicas, no relacionadas con la dosis y cuyo mecanismo patogénico no está totalmente aclarado. En la forma mediterránea de la deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, la administración de cloranfenicol da lugar a una anemia hemolítica.

La aplicación de cloranfenicol en el período neonatal da lugar al «síndrome gris», cuyo desarrollo está en relación con la inmadurez metabólica existente en esta época de la vida. Se caracteriza por la aparición de distensión abdominal, vómitos, flaccidez, cianosis y muerte.

El resto de las acciones secundarias son raras, y sólo merece destacarse la neuritis óptica, que es habitual y reversible.

Por la posibilidad de desarrollar una anemia aplásica, el uso del cloranfenicol y también del tianfenicol se ha limitado extraordinariamente. En la tabla 12-20 se señalan las indicaciones clínicas de uso de este antibiótico.

Tabla 12-19. Efectos adversos producidos por el cloranfenicol y tianfenicol

Hematológicos
Depresión medular reversible
Anemia aplásica
Anemias hemolíticas
Síndrome gris
Neurológicos
Neuritis óptica
Neuritis periférica
Cefaleas
Depresión
Oftalmoplejía
Confusión mental
*Reacciones de hipersensibilidad**
Rash cutáneo
Fiebre
Anafilaxia
Digestivos
Náuseas
Vómitos
Diarreas
Glositis
Estomatitis
Disminución de la producción de vitamina K endógena (hemorragias)
Sobreinfecciones

*Muy raras.

Tabla 12-20. Indicaciones del cloranfenicol

Fármacos de elección en	Fármacos alternativos en
Abscesos cerebrales (asociado a una penicilina)	Infecciones por *B. fragilis*
Meningitis por	Meningitis (en alérgicos a penicilina) por
H. influenzae (resistentes a ampicilina)	*S. pneumoniae*
Bacilos gramnegativos	*N. meningitidis*
Fiebre tifoidea y salmonelosis (no portadores)	Infecciones por rickettsias
Infecciones oculares	

Macrólidos

Son antibióticos de carácter básico, caracterizados químicamente por poseer un gran anillo lactónico, al que se unen por puentes glucosídicos aminoazúcares. Se obtienen de *Streptomyces*, a excepción de la rosaramicina que es producida por *Micromonospora*. El grupo es muy amplio, y los representantes más importantes son: eritromicina *(S. erythreus)*, oleandomicina *(S. antibioticus)*, espiramicina *(S. ambofociens)*, josamicina *(S. norbonensis* var. *josomiceticus)* y rosaramicina *(Micromonospora rosaria)*.

El espectro de todos ellos es semejante e incluye: bacterias grampositivas, neisserias, *Bordetella pertussis*, *Hoemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, anaerobios (a excepción de *B. fragilis*, frente al que sólo presentan buena actividad la josamicina y rosaramicina), espiroquetas, rickettsias y *Mycoplasma pneumoniae*. Las enterobacterias son sensibles a pH de 8,5. Frente a anaerobios, los fármacos más activos son josamicina y rosaramicina, y el primero induce resistencia más lentamente.

Son bacteriostáticos, aunque a altas concentraciones se comportan como bactericidas. Actúan inhibiendo la síntesis proteica y, puesto que se unen a los ribosomas 50S, impiden la translocación y al mismo tiempo la elongación de la cadena peptídica.

La resistencia a los macrólidos puede aparecer por disminución de la permeabilidad o una mutación que codifica un cambio en la proteína receptora en los ribosomas 50S (como ésta es común a cloranfenicol y lincosamidas, determina resistencia cruzada), o ser plasmídica y producir la alteración de la subunidad 23S de los ribosomas 50S a causa de una metilación de la adenina.

La eritromicina y otros macrólidos son antibióticos con escasos efectos secundarios, que son enumerados en la tabla 12-21.

Tabla 12-21. Efectos adversos de la eritromicina

*Irritativos**
Gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarreas)
Tromboflebitis (vía IV)
Hipersensibilidad
Fiebre
Exantema
Eosinofilia
Hepatitis colostática (con estolato)
Sobreinfecciones
Por candidas
Por bacilos gramnegativos

*Los más frecuentes.

Tabla 12-22. Indicaciones de la eritromicina

Fármacos de elección en	Fármacos alternativos en
Neumonía atípica primaria (*M. pneumoniae*)	Infecciones por estreptococos
Legionelosis	Infecciones por neumococos
Difteria y portadores de *C. diphteriae*	Profilaxis de la fiebre reumática
Tos ferina	Prevención de la endocarditis bacteriana (manipulaciones dentales)
Gastroenteritis por *campylobacter*	Gonococia
Infecciones uretrales y endocervicales por *Chlamydia trachomatis*	Sífilis
	Infecciones broncopulmonares
Prostatitis crónicas	Infecciones urinarias (por grampositivos)

De todos los macrólidos, el más empleado en clínica es la eritromicina, tanto por sus indicaciones específicas como por tratarse de un fármaco alternativo en los casos de hipersensibilidad a la penicilina (tabla 12-22). La espiramicina se emplea para el tratamiento de la toxoplasmosis de la embarazada y de la criptosporidiosis intestinal.

Lincosamidas

Estructuralmente, estos agentes están formados por un aminoácido unido por un enlace amídico a un azúcar. El primer representante del grupo fue la lincomicina, antibiótico obtenido de *Streptomyces lincolnensis*. A partir de éste se obtuvo un derivado semisintético, la clindamicina (7-cloro-7-desoxi-lincomicina), que con toxicidad semejante mejoraba, no obstante, la actividad y su farmacocinética. En la actualidad se investigan nuevos derivados, cuya principal virtud radica en una mayor actividad, especialmente frente a *Bacteroides fragilis*.

El espectro de estos fármacos es bastante limitado: son principalmente activos frente a cocos grampositivos, salvo enterococos, y frente a bacterias anaerobias. La clindamicina es uno de los fármacos más eficaces frente a *Bacteroides fragilis*.

Son antibióticos bacteriostáticos, pero frente a los cocos grampositivos pueden comportarse como bactericidas. Actúan inhibiendo la síntesis proteica, uniéndose a los ribosomas 50S e impidiendo la transpeptidación (transferencia del aminoácido de ARNm a la cadena peptídica).

La resistencia cromosómica, o extracromosómica, se debe a modificaciones en la proteína receptora de los ribosomas 50S. Por ello es frecuente la aparición de resistencia cruzada con el cloranfenicol y macrólidos, al compartir el mismo receptor proteico.

En general son antibióticos poco tóxicos y sobresale en este aspecto la colitis pseudomembranosa, entidad surgida y estudiada profundamente en el curso de su aplicación, especialmente en la de clindamicina. Se debe a una verdadera sobreinfección provocada por el antibiótico, que produce una destrucción de parte de la flora normal. El vacío ecológico que se crea es ocupado por *Clostridium difficile*, que mediante sus toxinas produce el cuadro. Dejando a un lado esta afección son frecuentes asimismo las diarreas. En la tabla 12-23 se observan los efectos adversos más comunes provocados por las lincosamidas. La utilización clínica de éstas debe ser muy restringida, ya que se puede disponer de otros antibióticos menos agresivos que abarcan su campo de aplicación.

De las dos lincosamidas citadas, en razón de su actividad y farmacocinética, debe utilizarse la clindamicina. Su empleo está indicado en las infecciones por *B. fragilis*, localizadas fuera del SNC, especialmente a nivel abdominal. Se puede aplicar como alternativa de las penicilinas en las infecciones por *C. perfringens* y otros anaerobios sensibles, así como en infecciones por cocos grampositivos. La lincomicina se ha utilizado con éxito en osteomielitis crónicas por estafilococos debido a su especial afinidad por el tejido óseo. La clindamicina se ha utilizado para el tratamiento del paludismo producido por *Plasmodium falciparum* resistente a cloroquina y en la coriorretinitis aguda por *Toxoplasma gondii*.

Rifamicinas

Son antibióticos lejanamente emparentados con los macrólidos. Son macrocíclicos y constan de núcleos aromáticos unidos por cadenas alifáticas. Existen una serie de sustancias naturales, que se denominan por las letras del alfabeto y son obtenidas de *Streptomyces mediterranei*. De todas ellas, la más importante es la rifamicina B, de la que se obtiene semisintéticamente por oxidación la rifamicina SV y, por reducción de ésta, la rifampicina, que es la más empleada en clínica.

La rifamicina SV y la rifampicina tienen un espectro semejante; la última presenta mayor actividad frente a gramnegativos, tiene una mejor farmacocinética y se absorbe adecuadamente por vía oral. Son activos fundamentalmente frente a grampositivos y micobacterias, pero también entran en su espectro neisserias y bacilos gramnegativos. En micobacterias gozan de gran actividad especialmente con *M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. leprae*. El resto de micobacterias muestran una sensibilidad variable, en ocasiones relacionada con el grupo de Runyon al que aquéllas pertenecen.

Son bactericidas incluso frente a *M. tuberculosis*. Actúan inhibiendo la ARN-polimerasa dependiente del ADN. Dan lugar a resistencias cromosómicas en un solo escalón y, por ello, es fundamental asociarlas con otros fármacos, por ejemplo, isoniacida y etambutol.

La rifampicina es un fármaco poco tóxico. Entre los efectos adversos que produce, los más importantes son los hepáticos debido fundamentalmente a que en el hígado se metaboliza este fármaco. Lo común es una elevación de las transaminasas y más rara vez ictericia, efectos que remiten

Tabla 12-23. Efectos adversos de las lincosamidas

Reacciones de hipersensibilidad
Exantemas
Fiebre
Eritema multiforme (raro)
Anafilaxia (rara)
Gastrointestinales
Diarreas
Colitis pseudomembranosa
Hepáticos
Elevación de transaminasas
Ictericia

Tabla 12-24. Efectos adversos de la rifampicina

Hepatotóxicos
Incremento de la tasa de transaminasas
Ictericia
Hepatitis tóxica
Reacciones de hipersensibilidad
Fiebre
Prurito
Urticaria
Eosinofilia
Hemólisis
Fallo renal
Intolerancia digestiva
Náuseas
Vómitos
Dolor abdominal
Diarrea
Coloración de líquidos orgánicos y piel
Reacciones inmunes
Síndrome pseudogripal
Síndrome respiratorio
Síndrome abdominal

al retirar su administración. Más raramente se produce una hepatitis tóxica que puede causar la muerte.

Estas complicaciones tóxicas a veces son difícilmente imputables al antimicrobiano, ya que suele asociarse a otros fármacos hepatotóxicos, como la isoniacida. De todas formas son más frecuentes en pacientes con enfermedad hepática previa, alcohólicos y personas mayores, cuando se dan dosis elevadas o se asocian con otros fármacos hepatotóxicos. En la tabla 12-24 se refieren los efectos adversos de la rifampicina.

En la actualidad, el uso de la rifampicina está prácticamente limitado al tratamiento de la tuberculosis, la lepra y las micobacteriosis producidas por micobacterias sensibles. Otras indicaciones son la profilaxis de la meningitis meningocócica (fármaco de elección) y de la producida por *H. influenzae*, terapéutica de la brucelosis y como pauta alternativa y tratamiento de las endocarditis por *Staphylococcus epidermidis*. En combinación con otros antimicrobianos se puede utilizar en otro tipo de infecciones por estafilococos.

Fosfomicina

Se trata de un antimicrobiano peculiar en muchas de las propiedades que exhibe: peso molecular muy bajo y estructura química única; es el ácido cis-epoxipropilfosfónico. Está producido por *Streptomyces fradiae* y es el fruto de una investigación conjunta hispano-norteamericana.

Su espectro de acción incluye los cocos grampositivos y negativos, y los bacilos gramnegativos aerobios y facultativos, incluidos *Serratia* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Es un antibiótico bactericida que penetra en la célula bacteriana para ejercer su acción gracias al α-glicerofosfato y a la d-glucosa-6-fosfato. Actúa (gracias a su grupo epósido y por su semejanza estructural con el fosfoenolpiruvato) inhibiendo la convertasa que cataliza la condensación de UDPN-acetil-glucosamina con el fosfoenolpiruvato, para formar UDP-ácido N-acetil-murámico.

La resistencia surge con relativa facilidad, sobre todo en microorganismos menos sensibles: *Proteus* indol-positivos, *P. aeruginosa* y *Klebsiella*. Es de tipo cromosómico, y se debe a la pérdida por la bacteria del sistema de transportador α-glicerofosfato.

Tiene un bajísimo potencial tóxico y afecta sólo el aparato digestivo, con diarreas leves y prurito anal. La administración parenteral aporta cantidades considerables de Na^+ y la intramuscular es muy dolorosa.

Su empleo está indicado en enfermedades infecciosas provocadas por bacterias sensibles y se ha mostrado eficaz en diversas circunstancias clínicas. Cuando estén implicados microorganismos que desarrollen fácilmente resistencias, es útil su asociación con otros agentes antimicrobianos.

Sulfamidas (tabla 12-25)

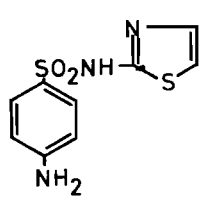
Son antimicrobianos obtenidos sintéticamente, derivados de la sulfanilamida (para-benzo-sulfonamida). Se clasifican de acuerdo con su capacidad de absorción. Las sulfamidas absorbibles se emplean para el tratamiento de algunas infecciones sistémicas y las no absorbibles, en infecciones del tubo digestivo, o son de uso tópico. También se emplean en otros procesos no directamente relacionados con su espectro de actividad, tal es el caso de la colitis ulcerosa.

Tabla 12-25. Sulfamidas

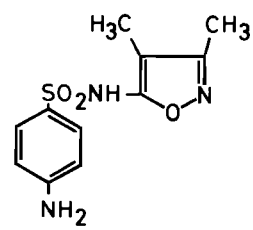
Clasificación

I. Absorbibles

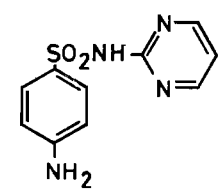
1. Vida media corta



Sulfatiazol

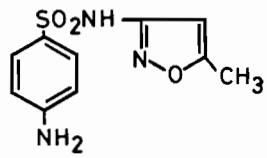


Sulfisozaxol



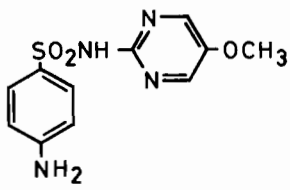
Sulfadiacina

2. Vida media intermedia

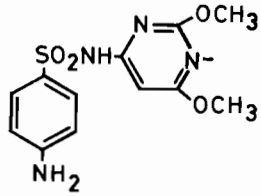


Sulfametoxazol

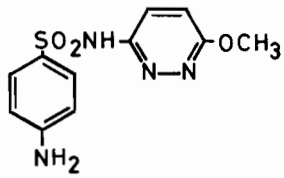
3. Vida media larga



Sulfametoxidiacina

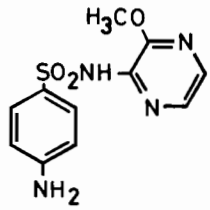


Sulfadimetoxina



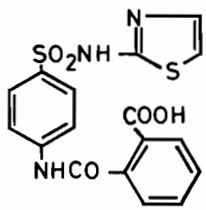
Sulfametoxipiridacina

4. Vida media ultralarga

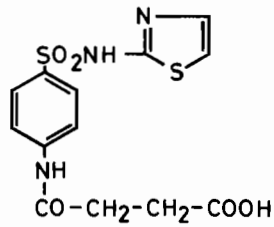


Sulfametoxipiracina
(sulfapirazinmetoxina)

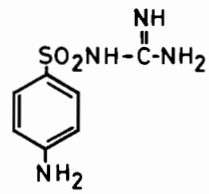
II. No absorbibles



Ftalilsulfatiazol
(sulfatalidina)

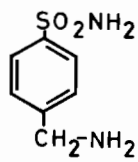


Succinilsulfatiazol
(sulfasuxidina)

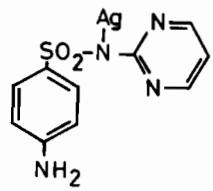


Sulfaguanidina

III. De uso tópico

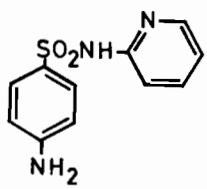


Mafenida

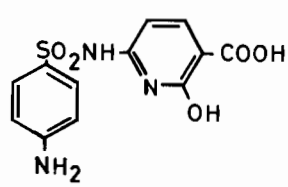


Sulfadiacina argéntica

IV. Sulfapiridinas



Sulfapiridina



Salicilazosulfapiridina

Son quimioterápicos de amplio espectro, pues muestran actividad frente a grampositivos, gramnegativos, clamidias y algunos protozoos. Se comportan como bacteriostáticos y actúan inhibiendo la síntesis de ácido fólico por competitividad con el PABA (ácido paraaminobenzoico) (tabla 12-26).

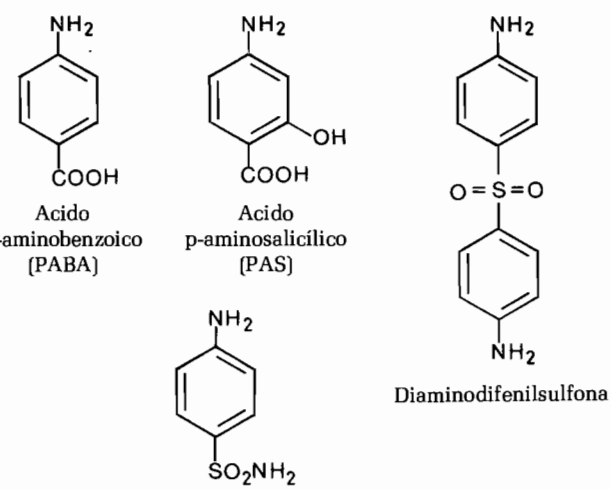
En la actualidad existen numerosas resistencias en especies primitivamente incluidas en su espectro de acción. El mecanismo de adquisición puede ser cromosómico o extracromosómico. La resistencia cromosómica surge por una mutación que condiciona una sobreproducción de PABA o bien una modificación estructural de la enzima que interviene en la síntesis del ácido fólico que pierde su afinidad por las sulfamidas. Cuando la resistencia es plasmídica, se debe a una disminución de permeabilidad.

Tienen cierta toxicidad, a pesar de que con los preparados modernos se producen menos efectos secundarios. En la tabla 12-27 se refieren los principales efectos yatrógenos que puede provocar la aplicación de sulfamidas. Estos agentes pueden desplazar la bilirrubina en la albúmina y producir hiperbilirrubinemia. Si esta circunstancia ocurre al final del embarazo o en recién nacidos, se provoca *kernicterus*.

El uso clínico de las sulfamidas se ha reducido bastante en la actualidad, como ha sucedido con otros antimicrobianos, como, por ejemplo, la tetraciclina y cloranfenicol. En la tabla 12-28 se recogen las principales indicaciones de su empleo. Es preciso señalar que las sulfamidas denominadas de vida media, larga o ultralarga no deben utilizarse en la actualidad, puesto que inducen fácilmente fenómenos de hipersensibilidad, y han de sustituirse por otros antimicrobianos.

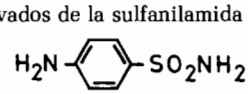
Estas sustancias pueden, además, utilizarse en la profilaxis de la fiebre reumática y de la meningitis, y en este último caso siempre que las cepas de *Neisseria meningitidis* sean susceptibles.

Tabla 12-26. Sulfamidas



Características

1. Químicas: derivados de la sulfanilamida



2. Microbiológicas: actividad frente a gram+ y gram–, clamidias y algunos protozoos
3. Mecanismo de acción: bacteriostáticos, interfieren en la síntesis del ácido fólico
4. Efectos adversos: amplio espectro de acciones secundarias
5. Resistencia: cromosómica por modificación de la vía metabólica de síntesis del ácido fólico y extracromosómica por disminución de la permeabilidad

Tabla 12-27. Efectos adversos de las sulfamidas

Renales
Cristaluria
Insuficiencia
Hemáticos
Anemia hemolítica (deficiencia de G-6-fosfato-deshidrogenasa)
Trombocitopenia
Agranulocitosis
Leucopenia
Reacciones de hipersensibilidad
Fiebre
Erupción
Eritema nudoso
Eritema multiforme
Gastrointestinales
Náuseas
Vómitos
Diarrea
Hiperbilirrubinemia

Tabla 12-28. Indicaciones de las sulfamidas

Infecciones urinarias agudas
Chancro blando
Infecciones por clamidias
Tracoma y conjuntivitis de inclusión
Linfogranuloma venéreo
Uretritis
Infecciones por *Nocardia*
Toxoplasmosis (conjuntamente con pirimetamina)
Paludismo (*Plasmodium falciparum*)
Infecciones por *P. aeruginosa* en quemados (profilaxis y tratamiento con mafenida o sulfadiacina argéntica)
Colitis ulcerosa (salicilazol-sulfapiridina)
Dermatitis herpetiforme (sulfapiridina)

Cotrimoxazol

Es un preparado compuesto por la asociación de sulfametoxazol y trimetoprim en una proporción de 5 a 1. El sulfametoxazol es una sulfamida de vida «intermedia» y el trimetoprim es una diaminopirimidina. Ambos fármacos se obtienen por síntesis y son, por tanto, quimioterápicos.

El espectro del sulfametoxazol es el señalado para la sulfamida. El trimetoprim es activo frente a cocos y bacilos gramnegativos, con excepción de *P. aeruginosa* y *Bacteroides*. La unión de los dos quimioterápicos potencia su acción de forma sinérgica y aumenta su eficacia.

El sulfametoxazol actúa como las demás sulfamidas y el trimetoprim interfiere en la síntesis del ácido folínico inhibiendo la hidrofolato-reductasa. La resistencia al trimetoprim puede ser cromosómica o extracromosómica y surge

Tabla 12-29. Indicaciones de uso del cotrimoxazol

Infecciones urinarias
Infecciones de vías respiratorias
Brucelosis (fármaco alternativo)
Nocardiosis
Cólera (alternativo de las tetraciclinas)
Salmonelosis
Shigelosis
Paludismo (por *P. falciparum*)
Gonococia (alternativa)
Infecciones por *Pneumocystis carinii*
Profilaxis en enfermos neutropénicos

al perder las bacterias el mecanismo metabólico que inhibe esta sustancia.

La toxicidad del cotrimoxazol es idéntica a la de las sulfamidas, salvo la aparición de efectos derivados de la actividad antifolínica del trimetoprim, sobre todo en la medula ósea. Las indicaciones de uso de cotrimoxazol se reflejan en la tabla 12-29. El trimetoprim también se ha asociado a otras sulfamidas como sulfamoxol y sulfadiacina.

Quimioterápicos urinarios

Son sustancias obtenidas por síntesis que se concentran y eliminan por el riñón dando lugar a niveles urinarios capaces de inhibir las bacterias. En suero no se hallan niveles adecuados.

Nitrofurantoína

Es un nitrofurano, eficaz frente a enterobacterias, estafilococos, enterococos, difteroides y *Bacillus subtilis*. Actúa inhibiendo la síntesis proteica. Su administración puede dar lugar a numerosos fenómenos secundarios, aunque de rara presentación: reacciones de hipersensibilidad, fenómenos irritativos gastrointestinales y alteraciones hematológicas (anemias hemolíticas en deficiencias de G-6-PD), hepáticas, neurológicas (polineuritis) y pulmonares.

Su uso está bastante restringido y se debe utilizar en las infecciones no complicadas del tracto urinario inferior. Su empleo también está admitido en profilaxis cuando se realizan manipulaciones en el aparato urinario.

Quinolonas y análogos

Son un grupo de quimioterápicos que han tenido un gran desarrollo en los últimos años. Se obtienen por síntesis, y su estructura básica es la 4-quinolona. Desde un punto de vista microbiológico el hecho clave de su desarrollo ha sido la introducción de un átomo de flúor en posición 6. Se distinguen, pues, dos grupos: las quinolonas no fluoradas, que engloban, entre otras, los ácidos nalidíxico y oxolínico, cinoxacina y ácidos piromídico y pipemídico. En el grupo segundo de las quinolonas fluoradas se incluyen múltiples quimioterápicos, siendo los más importantes norfloxacina, ciprofloxacina, ofloxacina, pefloxacina y enoxacina.

Todas ellas actúan inhibiendo la ADN-girasa, enzima que interviene en el superenrollamiento del ADN, impidiendo, por tanto, la fase de elongación.

La resistencia es cromosómica por mutación y afecta varios *loci*, determinando diferentes tipos de mecanismos de resistencia. Esta es total y cruzada en las no fluoradas y parcial entre éstas y las fluoradas. Las bacterias que se hacen resistentes a las primeras necesitan concentraciones ligeramente superiores de las fluoradas para inhibirse.

Las no fluoradas son activas frente a enterobacterias, *Neisseria* y *Haemophilus*. Su actividad es exigua sobre grampositivos, siendo la más eficaz el ácido piromídico. El ácido pipemídico inhibe a *Pseudomonas aeruginosa*. El espectro fundamental de las fluoradas son las enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria* spp. y *Haemophilus influenzae* y muestran también actividad frente a *Staphylococcus*, *Streptococcus*, micobacterias, bacterias anaerobias, *Chlamydia*, *Mycoplasma* y *Legionella*.

Tienen pocos efectos secundarios, y son los más llamativos las alteraciones digestivas y del sistema nervioso central.

Las quinolonas no fluoradas y la norfloxacina se utilizan para el tratamiento de infecciones urinarias. El resto de las fluoradas se pueden emplear, además, en infecciones sistémicas y en las enfermedades de transmisión sexual producidas por *Neisseria*, *Chlamydia* y *Mycoplasma*. Estas últimas tienen una buena absorción oral (aunque existen presentaciones parenterales) y alcanzan concentraciones en suero y tejidos superiores a las CMI de los patógenos habituales. Debido a su escasa ligazón proteica y su pequeño tamaño molecular difunden muy bien en los tejidos. La eliminación es preferentemente renal y menor por la bilis. No obstante, en el caso de ciprofloxacina se establece a nivel terapéutico una circulación enterohepática interesante.

Antifúngicos

En la tabla 12-30 se muestran los principales fármacos para tratar las infecciones provocadas por hongos.

Poliénicos

Están integrados químicamente por cadenas lineales con varios enlaces dobles conjugados en carbonos alternos, penta, hexa o hapteno (polienos), y un anillo macrólido de lactona con porciones hidrofílicas y lipofílicas. Se han aislado de diferentes *Streptomyces:* la nistatina de *S. noursei* y la anfotericina de *S. nodosus*. Estos son los dos fármacos más importantes del grupo, aunque existen otros menores que se emplean por vía tópica, como la pimaricina *(S. natalensis)* o la candidicina *(S. viridoflavus)*.

Actúan uniéndose a los esteroles, sobre todo el ergosterol, de la membrana citoplásmica fúngica, alterando su per-

Tabla 12-30. Antifúngicos

Poliénicos
Anfotericina B
Nistatina
Pimaricina
Candicidina
Flucitosina
Griseofulvina
Imidazólicos
Clotrimazol
Miconazol
Ketoconazol

meabilidad y produciendo así su acción fungistática o fungicida. La resistencia surge por mutación, bien por alteraciones de los esteroles o por disminución del contenido de ergosterol.

Existe una resistencia cruzada entre todos los poliénicos.

La nistatina sólo se administra por vía oral o tópica, ya que por vía parenteral es tóxica. No se absorbe y, por tanto, aunque su espectro sea semejante al de la anfotericina B, sólo se utiliza para tratar candidiasis mucocutáneas. Debido a su vía de administración es poco tóxica y sólo da lugar a fenómenos de sensibilización e intolerancias digestivas.

La anfotericina B se administra por vía tópica o intravenosa y muestra por esta forma de administración un amplio poder tóxico, que incluye insuficiencia renal, tromboflebitis, náuseas o vómitos, daño cardiocirculatorio y alteraciones hematológicas, etc. Es activa frente a *Blastomyces*, *Candida*, *Histoplasma*, *Cryptococcus*, *Torulopsis*, *Coccidioides*, *Aspergillus*, *Mucor* o *Sporotrichum*. Por eso se emplea en las candidiasis mucocutáneas, por vía tópica, y en las micosis sistémicas, producidas por hongos sensibles, por vía intravenosa. Debido a su gran toxicidad, ya mencionada, puede utilizarse a dosis inferiores asociada a 5-fluorocitosina, rifampicina y tetraciclinas. La asociación con los antibióticos es útil, ya que al actuar les permite su penetración.

Flucitosina

Es un quimioterápico constituido por una pirimidina (citosina) fluorada en su carbono 5. Es eficaz frente a *Candida*, *Torulopsis* y *Cryptococcus* y también en las cromomicosis.

Se comporta como fungistático y fungicida, y se requieren en este último caso dosis altas y tiempo de actuación prolongado. Penetra en las células fúngicas gracias a la acción de una citoxín-permeasa y posteriormente es desaminada a 5-fluorouracilo por una citosín-desaminasa. El 5-fluorouracilo es el que muestra la acción, al ser integrado en los ácidos nucleicos. En las células de los mamíferos no actúa, debido a que carecen de citosín-desaminasa. Da lugar a resistencia por mutación que no es cruzada, como sucede con otros antifúngicos.

Es un antifúngico bien tolerado, que puede dar lugar a alteraciones de la función hepática y hematológicas al actuar sobre la medula ósea. Se emplea para el tratamiento de infecciones por hongos sensibles, principalmente asociado con la anfotericina B.

Griseofulvina

Es un antibiótico obtenido a partir de *Penicillium griseofulvum*. Con espectro reducido a los dermatofitos (*Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*), actúa inhibiendo la síntesis de ADN. Rara vez, su aplicación determina efectos secundarios, pero, cuando aparecen, se trata de cefaleas, neuritis periférica, alteraciones del sistema nervioso central o problemas intestinales. Su empleo está indicado en las dermatomicosis.

Imidazoles

Son los antifúngicos de más reciente investigación. Se trata de fármacos sintéticos preparados a partir del imidazol. Los más importantes son el clotrimazol, miconazol y ketoconazol. Están emparentados con fármacos activos frente a parásitos nitroimidazoles (metronidazol, tinidazol y ordinazol), mebendazol, levimasol, etc.

Son de amplio espectro, pues actúan frente a bacterias grampositivas, parásitos y todo tipo de hongos, incluidos los dermatofitos. Actúan sobre la pared celular. El clotrimazol se utiliza por vía tópica, ya que se inactiva por el hígado, el miconazol, por vía tópica e intravenosa y el ketoconazol, por vía oral.

Son productos poco tóxicos, aunque pueden dar lugar a fenómenos de intolerancia y toxicidad digestiva y neurológica. Se emplea en el tratamiento de micosis superficiales y profundas.

BIBLIOGRAFIA

Belmonte Vicente, A.: Terapéutica antibiótica. Antibióticos, S. A. Madrid, 1981.

Brown, A. G.: New naturally occurring Beta-lactam antibiotics and related compounds. J. Antimicrob. Chemother., 7, 15-48, 1981.

Drobnic Orazem, L.: Principios generales de la utilización de los antibióticos. En Drobnic, L., y Salvá, J. A. (dirs.): Curso sobre Antibioterapia, 131-152. Ruan, Alcobendas, 1980.

Greenwood, D., y O'Grady, F.: The scientific basis of antimicrobial Chemotherapy. Cambridge University Press, Londres, 1985.

Joklik, W. K.; Willett, H. P., y Amos, D. B.: Zinsser microbiology, 18.ª ed. Appleton-Century-Crofts. Norwalk, 1984.

Lennette, E. H.; Ballows, A.; Hausler, W. J., Jr., y Shadomy, H. J.: Manual of clinical microbiology, 4.ª ed. American Society Microbiology, Washington, 1985.

Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E.: Principles and practice of infectious diseases, 2.ª ed. Wiley, New York, 1985.

O'Callaghan, C. H.: Description and classification of the newer cephalosporins and their relationships with the established compounds. J. Antimicrob. Chemother., 5, 635-671, 1979.

Peterson, P. K., y Verhoef, J.: The antimicrobial agents. Annual 1. Elsevier, Amsterdam, 1986.

Pratt, W. B., y Fekety, R.: The antimicrobial drugs. Oxford University Press, New York, 1986.

Pumarola Busquets, A.: Mecanismo de acción de los antibióticos. En Drobnic, L., y Salvá, J. A. (dirs.): Curso sobre antibioticoterapia. Ruan, Alcobendas, 1980.

Capítulo 13

Relación huésped-bacteria (I)

Agustín Pumarola

MODELOS DE RELACION. FLORA NORMAL

MODELOS DE RELACION HUESPED-BACTERIA

Los agentes bacterianos según sus condiciones de vida se pueden dividir en dos grandes grupos:

Saprofitos. Viven libres en la naturaleza y se nutren de materia inorgánica u orgánica no viva. Constituyen la mayor parte del mundo microbiano, intervienen en la transformación de la materia orgánica en mineral y son responsables de los ciclos del nitrógeno y del carbono en la naturaleza. Por lo general son incapaces de desarrollarse en el organismo animal, porque no encuentran las condiciones ecológicas y nutritivas necesarias para su supervivencia o éste presenta mecanismos defensivos que los inhiben o destruyen.

Simbiontes o parásitos. Habitan en la superficie o en el interior de otro ser vivo, del que obtienen protección y las condiciones ecológicas y nutritivas necesarias para su desarrollo y multiplicación. Aunque el término simbionte se considera más apropiado, pues significa «vida en común» y no prejuzga el resultado de la asociación, en microbiología médica tradicionalmente se acostumbran denominar parásitos en un sentido amplio o general.

La adscripción a uno de estos grupos no siempre es permanente u obligatoria, sino que a veces puede ser accidental o temporal, pues los simbiontes o parásitos pueden en ocasiones sobrevivir en la naturaleza o algunos saprofitos pueden adaptarse temporalmente a vivir en asociación con otro ser vivo, sobre todo cuando varían las condiciones ecológicas o se inhiben los mecanismos defensivos del huésped por cualquier causa.

Considerando que los simbiontes o parásitos encuentran condiciones beneficiosas en cuanto a protección y nutrientes, los resultados para el huésped pueden presentar diversos grados:

Comensalismo. Se produce cuando la asociación es indiferente para el huésped. En este caso no le reporta beneficio ni le causa perjuicio, como ocurre con la mayoría de la flora microbiana normal de la piel y mucosas del organismo. Hemos de tener en cuenta que la flora comensal está compuesta en general por bacterias no patógenas y también por patógenas potenciales u oportunistas, que sólo son capaces de producir enfermedad cuando concurren factores que disminuyen las defensas del huésped. Por otra parte, algunas bacterias patógenas pueden comportarse temporalmente como comensales; en estos casos, el huésped se considera como un «portador sano» de bacterias patógenas, aunque a veces, cuando se examina más profundamente esta asociación, se demuestra un estado de parasitismo (infección crónica leve).

Mutualismo. Se observa cuando la asociación es beneficiosa para el huésped. En este caso, la vida en común reporta beneficios tanto para la bacteria como para el huésped. Algunas bacterias del tubo intestinal sintetizan vitaminas (vitaminas K, B_2, B_6); otros componentes de la flora normal de la piel y mucosas secretan sustancias bactericidas que dificultan la colonización de los patógenos.

Parasitismo. Ocurre cuando la asociación es perjudicial para el huésped. En este caso, el desarrollo de las bacterias produce alteraciones, las bacterias son patógenas (parásitos en sentido restringido) y el huésped pone en marcha diversos mecanismos reactivos de defensa, dando como resultado la aparición de una infección o una enfermedad infecciosa.

Esto no implica que el parásito produzca necesariamente graves trastornos al huésped, sino que en los estados de parasitismo bien adaptados, que generalmente sólo se logran al cabo de mucho tiempo de esta asociación, se puede llegar a un estado de equilibrio, que sin apenas trastornos para el huésped amboś aseguren su supervivencia y propagación. Por el contrario, en los comienzos de la asociación parasitaria, cuando el parásito está poco adaptado al huésped, el organismo produce fenómenos reactivos que son tan perjudiciales para el huésped como para el parásito. La enfermedad siempre tiende a expulsar el parásito y, si es grave, puede abocar a la muerte, lo que representa un fracaso del parasitismo por pérdida de la fuente de nutrientes. Mientras que en la antigüedad la sífilis se manifestaba como una enfermedad aguda y grave, la constante asociación durante siglos de su agente causal *(Treponema pallidum)* con el hombre ha originado un mayor grado de adaptación, de ma-

nera que en la actualidad ha adquirido un curso crónico y más benigno.

De estos modelos de interacción, en microbiología médica interesa fundamentalmente el conocimiento de la flora microbiana normal del organismo humano, compuesta por una mayoría de comensales, cierto número de mutualistas y escasos parásitos, y el estudio de las bacterias parásitas o patógenas capaces de desarrollar en el hombre una acción nociva y producir enfermedades infecciosas, que en su mayoría se encuentran entre los parásitos.

FLORA MICROBIANA NORMAL

Generalidades

Los microbios se encuentran ampliamente difundidos en la naturaleza; por ello, no es de extrañar que, aun siendo el feto estéril, el hombre a partir del nacimiento esté constantemente expuesto a los microorganismos que se encuentran en el medio ambiente, que por contacto, vía respiratoria o digestiva llegan a las superficies y cavidades cutaneomucosas del organismo, que representan zonas potenciales de colonización. La piel y la conjuntiva se contaminan ya durante el nacimiento como consecuencia de su paso por el canal vaginal; las demás mucosas son estériles en el momento de nacer, pero se contaminan rápidamente. Estas áreas presentan condiciones físico-químicas y nutritivas constantes, que pueden ser adecuadas para la supervivencia y multiplicación de gran número de especies bacterianas heterotrofas. Como en ellas existen, además, mecanismos defensivos del huésped que tienden a eliminarlas, en su mayoría no persisten durante largo tiempo.

Sin embargo, cierto número de especies son capaces de sobrevivir y aun de establecerse en el nuevo hábitat, adaptándose a las condiciones ecológicas existentes. Cuando estos microorganismos presentan propiedades patógenas, pueden producir una infección, frente a la cual el huésped despliega una serie de mecanismos reactivos que tienden a eliminarlos. Por el contrario, cuando no presentan una acción nociva, pueden integrarse en la zona, desplazan en ocasiones las especies existentes y entran a formar parte de una población microbiana equilibrada, que, en ausencia de cualquier cambio sustancial en las condiciones ambientales, puede permanecer estable.

La flora microbiana normal se encuentra localizada en la piel y en una parte de las mucosas; el resto del organismo no contiene microorganismos y debe considerarse, en condiciones normales, como una zona estéril. En su mayoría, la flora está constituida por bacterias, a las que siguen por orden de frecuencia los hongos, virus y protozoos.

Su composición es variable según los individuos y depende de la edad, alimentación, clima y condiciones económico-sociales, en relación con el grado de saneamiento ambiental y de higiene personal. Pero, además, en un mismo individuo, la composición de la flora varía según la zona orgánica que se considere. Las características ecológicas de cada zona difieren en cuanto a condiciones físico-químicas (temperatura, humedad, pH), respiratorias (potencial de óxido-reducción) y nutritivas (calidad y cantidad de nutrientes), y presencia de receptores específicos en la superficie de las células epiteliales y de sustancias inhibidoras (lisozima, bacteriocinas, ácidos grasos no saturados, IgA secretoras), lo que condiciona la existencia de diferentes biotopos que determinan la localización selectiva de determinadas especies microbianas según la zona.

En relación con la flora hay que distinguir dos tipos de bacterias: residentes y transeúntes. Las *bacterias residentes*, también denominadas autóctonas o indígenas, son aquellas que se encuentran bien adaptadas a las condiciones ecológicas de la zona y son capaces de adherirse a los receptores de la superficie de las células epiteliales, multiplicarse a partir de los nutrientes, resistir o evitar la acción de los mecanismos defensivos del huésped y en definitiva establecerse y colonizar en determinados nichos ecológicos manteniéndose a un nivel estable. En la práctica, estas bacterias se encuentran y se aíslan constantemente en las personas normales.

Las *bacterias transeúntes*, menos adaptadas, se hallan libres en la superficie de la piel y mucosas o fijadas a restos alimentarios. En estas condiciones son capaces de sobrevivir y aun de multiplicarse durante cierto tiempo, pero, al no encontrar un nicho ecológico en condiciones normales, son eliminadas por los diversos mecanismos defensivos del huésped. Sin embargo, esta situación es relativa, ya que, cuando por cualquier causa se modifican las condiciones ambientales, las bacterias libres o transeúntes pueden fijarse y colonizar temporalmente en estos ecosistemas alterados.

Para la colonización de la piel y mucosas, uno de los factores más importantes es la capacidad de adherencia a las células epiteliales (cap. 14). Representa una gran ventaja ecológica, pues evita su eliminación y facilita la obtención de nutrientes, ya que la colonización microbiana es un proceso cíclico que comprende las etapas de fijación, multiplicación y liberación de las bacterias, con fijación en nuevas células epiteliales, lo que les permite establecerse de forma permanente.

La adherencia bacteriana, a su vez, incluye una serie de interacciones que se efectúan entre estructuras especializadas de las bacterias (polisacáridos superficiales, ácidos lipoteicoicos, glicocálix, fimbrias, extremidades diferenciadas de bacterias filamentosas) capaces de reconocer otras estructuras en la superficie de las células de la mucosa (receptores de la membrana o del glicocálix).

Flora de la piel y mucosas

Piel

En la piel (tabla 13-1) se encuentra una flora poco abundante por ser un medio poco adecuado para el desarrollo de la mayoría de especies bacterianas. La escasa hidratación del estrato córneo, la baja disponibilidad de nutrientes, la acidez de las glándulas sudoríparas (pH 5-6) y la presencia de diversas sustancias inhibidoras de origen celular o bacteriano (ácidos grasos no saturados, lisozima) son los principales factores limitantes. Por otra parte, como la tensión de oxígeno es elevada, la mayoría de la flora es aerobia o anaerobia facultativa.

Predomina una flora grampositiva, constituida por cocos coagulasa-negativos y bacilos difteromorfos, que por microscopia electrónica se observan formando microcolonias distribuidas irregularmente en la superficie de la piel y debajo del estrato córneo.

Tabla 13-1. Flora de la piel y mucosas superiores

	Piel	Oído externo	Conjuntiva	Mucosa nasal	Faringe	Boca
Bacterias						
Staphylococcus epidermidis	+++	+++	+++	+++	++	+++
Micrococcus aerobios	++	++	+	+	+	+
Staphylococcus aureus	+	+	+	+++	++	+
Streptococcus sp. (+*S. pyogenes*)	+	–	–	–	+	+
Streptococcus pneumoniae	–	+	+	++	++	+
Streptococcus α-hemolíticos	+	+	–	+	+++	+++
Corynebacterium (difteroides)	+++	+++	+++	++	++	+
Propionibacterium	+++	+	+	+	+	+
Lactobacillus	+	+	–	+	+	+
Bacillus	+	+	+	+	+	+
Clostridium perfringens	+	–	–	–	–	–
Otros anaerobios	+	–	–	–	+	+++
Enterobacteriaceae	+	+	–	+	+	+
Pseudomonas	+	+	–	+	+	+
Acinetobacter	+	+	–	+	+	+
Neisseria	+	–	+	+	+	+
N. meningitidis	–	–	–	–	+	+
Moraxella	–	–	+	+	+	+
Haemophilus	–	–	+	+	+	+
Hongos						
Candida	+	–	–	+	+	+
Pityrosporum	+++	+	–	–	–	–
Dermatofitos	+	–	–	–	–	–
Virus						
Herpesvirus	–	–	–	–	+	+
Adenovirus	–	–	+	–	+	–

–, Información negativa o insuficiente.

Entre los cocos grampositivos, los más abundantes son *Staphylococcus epidermidis* y diversas especies de micrococos aerobios, que producen sustancias antibacterianas (bacteriocinas, microcinas) responsables de la inhibición de la flora grampositiva (*Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes*) e incluso gramnegativa. Los bacilos difteromorfos forman un grupo heterogéneo perteneciente al género *Corynebacterium*, entre los que destacan las especies lipófilas muy difundidas en las zonas húmedas (axilas, ingle). Secretan lipasas que actúan sobre los lípidos (glándulas sebáceas) y producen ácidos grasos de acción antibacteriana sobre la flora grampositiva, responsables del mal olor. Además, se encuentra *Propionibacterium acnes*, microorganismo anaerobio, que, al igual que los anteriores, se localiza en zonas profundas de las glándulas sebáceas y folículos pilosos de la cara y espalda. Esto explica que la desinfección de la piel no elimine las bacterias localizadas en profundidad, que muchas veces contaminan las muestras obtenidas por punción (venosa, raquídea).

El resto de la flora grampositiva es poco abundante, y pueden encontrarse cocos y bacilos anaerobios y aerobios (*Peptococcus, Bacillus* y *Clostridium*), procedentes de las mucosas próximas (zona perineal).

La flora gramnegativa es escasa y se halla localizada en las zonas húmedas, como dedos del pie (*Acinetobacter calcoaceticus*) y axilas e ingle del 20 % de personas (*Klebsiella, Enterobacter, Proteus* y *Pseudomonas*). En el recién nacido, debido a su mayor hidratación y menor contenido en lípidos, la flora gramnegativa es más abundante.

Existen hongos levaduriformes lipófilos (*Pityrosporum ovale* y *P. orbiculare*) y no lipófilos (*Candida, Torulopsis*), que colonizan las zonas interdigitales, y hongos filamentosos (*Epidermophyton, Microsporum* y *Trichophyton*), agentes causales de tiñas y del pie de atleta.

Oído externo

Está recubierto por un epitelio parecido al de la piel, donde se encuentran las glándulas del cerumen, que no tiene acción bactericida. Presenta una flora semejante con predominio de cocos grampositivos (*S. epidermidis, Micrococcus, S. pneumoniae*), bacilos grampositivos (difteromorfos) y hongos diversos; contiene, además, una pequeña proporción de bacilos gramnegativos (*Enterobacteriaceae, Pseudomonas*), que muchas veces predominan en las infecciones de la zona (otitis medias).

Conjuntiva

La mucosa conjuntival se contamina ya en el momento del nacimiento y contiene una flora semejante a la piel, con algunas especies adicionales del género *Haemophilus, Moraxella* y *Neisseria*, y pueden aislarse en ocasiones adenovirus.

Vías respiratorias

La mucosa *nasal* representa el primer obstáculo para los microorganismos que ingresan por vía aérea, los cuales son detenidos por el moco y eliminados posteriormente por la secreción nasal. Por ello, en la mucosa nasal pueden encontrarse bacterias muy diversas, pero la flora residente está

constituida fundamentalmente por estafilococos (*S. epidermidis* y también *S. aureus* que se encuentra en el 10-50 % de personas) y anaerobios; con menor frecuencia, por *S. pneumoniae*, *Corynebacterium*, *H. influenzae*, *Neisseria*, y, pocas veces, por otros bacilos gramnegativos (enterobacterias, *Pseudomonas*). Por su temperatura más baja (35 °C) es el lugar de multiplicación de algunas micobacterias y rinovirus.

La *faringe* (rino y orofaringe) presenta una flora variada, en parte semejante a la flora nasal. Está integrada por estafilococos (*S. epidermidis*, *S. aureus*), estreptococos α-hemolíticos, *Corynebacterium*, *Neisseria*, así como gérmenes patógenos en pequeña proporción (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* y *H. influenzae*), que pueden ser la causa de faringitis. También pueden encontrarse bacilos gramnegativos en pequeño número y anaerobios en las criptas amigdalares, así como micoplasmas, herpesvirus y hongos del género *Candida*.

Los microorganismos predominantes son los estreptococos α-hemolíticos o *viridans*, que presentan una acción inhibidora sobre otras especies de cocos grampositivos e incluso de bacilos gramnegativos. Cuando por causas ambientales se inhibe esta flora estreptocócica, se facilita el desarrollo de otros microorganismos, especialmente de cocos grampositivos (*S. aureus*, *S. pyogenes*); asimismo, las enfermedades debilitantes predisponen a la colonización por bacilos gramnegativos y la administración por vía oral de antibióticos de amplio espectro puede producir una superinfección por hongos del género *Candida*. Hay que tener en cuenta que el aislamiento de *S. aureus* de la mucosa nasal o faríngea no indica necesariamente que el sujeto sea portador de una cepa virulenta o toxigénica transmisible, que justifique la administración de antibióticos.

Como en cualquier comunidad bacteriana, en la flora faríngea pueden existir dos o tres especies que presenten capacidad de adherencia para las mismas células epiteliales y compitan por el mismo nicho ecológico. En estas condiciones, cuando por modificaciones ambientales se inhibe la especie con capacidad de adherencia preferente, otra de las especies puede fijarse, colonizar y adquirir carácter dominante, como se ha observado en la colonización por *Candida*, consecutiva a la administración de antibióticos de amplio espectro.

Las *vías respiratorias inferiores* (tráquea, bronquios y pulmones) suelen ser estériles. Sin embargo, pueden llegar cierto número de microorganismos y partículas, que, en su gran mayoría y con pocas excepciones (*M. tuberculosis*), son captados por la mucosa y rápidamente eliminados al exterior.

Fig. 13-1. Placa dental. (Por cortesía de A. Nadal, Escuela de Estomatología, Barcelona.)

Boca

La *boca* es estéril al nacer, pero a las pocas horas se contamina y el número de bacterias aumenta rápidamente. La composición de la flora bucal varía a lo largo de la vida según el tipo de alimentación, la presencia de dientes y la existencia de procesos patológicos (gingivitis, caries). Al comienzo, la flora bucal es fundamentalmente aerobia o anaerobia facultativa y está compuesta por lactobacilos (lactancia materna) y diversas especies de estreptococos α-hemolíticos, que aparecen en orden secuencial en distintas localizaciones, según su capacidad de adherencia específica. En primer lugar, *S. salivarius* coloniza la mucosa de la boca y lengua; posteriormente con la dentición aparece *S. sanguis*, que coloniza la superficie libre de los dientes, y más tarde se observa *S. mutans* en las fisuras y cavidades del diente. Simultáneamente aparecen otras bacterias anaerobias facultativas, que, al reducir la tensión de oxígeno y el potencial de óxido-reducción, facilitan la aparición de una flora anaerobia, especialmente en los dientes (placa dental) y en el surco gingival. Esto hace que la flora bacteriana sea muy variada y la boca no deba considerarse como un hábitat uniforme, sino que presenta diferentes nichos ecológicos, caracterizados por una flora también diversa.

En la *lengua y partes blandas* predomina *S. salivarius*. En la saliva, la flora no es muy abundante (10^7-10^8/ml), pues sólo recoge las bacterias de la lengua y partes blandas, y muy pocos anaerobios de los dientes y del surco gingival; además, contiene diversas sustancias antibacterianas, como lisozima y lactoperoxidasas.

En los *dientes*, la flora es más abundante (10^9-10^{11}/ml) y se concentra en la placa dental (10^9-10^{10}/ml) y en el surco gingival (10^{11}/ml). La placa dental (fig. 13-1) está constituida por diversas bacterias, que forman microcolonias en el seno de una sustancia matriz, compuesta por glicoproteínas de origen salival y bacteriano. Las glicoproteínas de la saliva forman rápidamente una fina película en el diente, que facilita la adherencia de estreptococos (*S. mutans*, *S. sanguis*) y de bacilos grampositivos, que constituyen la mayoría de la flora en el período inicial. Estos estreptococos presentan la propiedad de desdoblar la sacarosa y polimerizar la glucosa, formando glucanos, polisacáridos insolubles que facilitan la adherencia bacteriana. Producen el crecimiento de la placa, que cada vez engloba un mayor número de bacterias (*Neisseria*, *Actinomyces*, *Leptothrix*, *Nocardia*), y, al disminuir el potencial de óxido-reducción, facilitan el desarrollo de los anaerobios (*Veillonella*, *Peptoestreptococcus*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*), vibriones y espiroquetas. A la vez se reduce la flora estreptocócica, y existen grandes variaciones en la composición de las distintas placas e incluso en zonas de una misma placa. En el surco gingival existe una flora bacteriana muy abundante (10^{11}/ml), de composición semejante a la placa dental, pero con una mayor proporción de anaerobios.

La placa dental se encuentra directamente relacionada con la aparición de caries, cuando existe un predominio de *S. mutans* (placa cariógena), o con la gingivitis y la enferme-

Tabla 13-2. Flora del intestino y mucosa vaginal

	I. delgado	I. grueso	Vagina
Bacterias			
Bacteroides, Fusobacterium	++	+++	+
Peptococcus, Peptoestreptococcus	+	++	++
Eubacterium, Bifidobacterium	+	++	+
Clostridium perfringens	++	+++	+
Staphylococcus aureus	±	+	+
Staphylococcus epidermidis	+	+	+
Streptococcus fæcalis	++	+++	+
Lactobacillus	+	+	+++
Corynebacterium sp.	+	+	++
Enterobacteriaceae	++	++	±
Pseudomonas	+	+	+
Treponema sp.	−	+	−
Mycobacterium sp.	−	+	−
Mycoplasma sp.	+	+	+
Chlamydia	−	−	+
Hongos			
Candida	+	+	++
Actinomyces	−	+	+
Protozoos			
Amebas, flagelados *(Trichomonas, Giardia)*	±	+	±
Virus			
Enterovirus, rotavirus, adenovirus, herpesvirus	−	+	±

dad parodontal, cuando predominan los anaerobios, en especial *Veillonella alcalescens* (placa paradontógena), que incrementa la flora anaerobia de la boca. En estos casos existe un mayor riesgo de producir infecciones pulmonares anaerobias por aspiración de secreciones, que generalmente son plurimicrobianas. Para producir infecciones necróticas de la boca, el *Bacteroides melaninogenicus* necesita asociarse con otros anaerobios y difteroides, con los cuales establece interacciones, cuyo mecanismo es parcialmente conocido.

Tubo digestivo

El intestino alberga un número enorme de bacterias (10^{14}) y de especies microbianas (> 300), en su gran mayoría en el intestino grueso (tabla 13-2). Las bacterias residentes se encuentran por lo general adheridas a las células epiteliales de la mucosa, en nichos ecológicos a lo largo del tubo intestinal, donde se multiplican permanentemente. Además, existe una abundante flora transeúnte que procede del medio ambiente, de la alimentación o de tramos superiores del tubo digestivo, que se encuentra libre en la luz intestinal o asociada con partículas y restos alimentarios. Transita pasivamente y en condiciones normales es incapaz de fijarse y establecerse, y es eliminada al exterior.

Las condiciones ecológicas varían a lo largo del tubo digestivo, el cual puede considerarse constituido por una serie de biotopos, cada uno de los cuales contiene una flora característica. Hay que destacar la disminución progresiva de la tensión de oxígeno y del potencial de óxido-reducción a lo largo del tubo digestivo, la acidez del jugo gástrico, el peristaltismo intestinal y la presencia de diversos nutrientes y sustancias inhibidoras.

En el *esófago* existen bacterias en pequeño número (10^4/ml), en su mayoría procedentes de los alimentos y de las secreciones de la boca y faringe.

El *estómago* presenta características especiales, como consecuencia de la acidez de la secreción gástrica (pH 2-3) y de la presencia de oxígeno aportado por la deglución. Por ello, la flora es escasa (10^3/ml) y está constituida por anaerobios facultativos resistentes a la acidez, pertenecientes a los géneros *Lactobacillus, Streptococcus* y algunas levaduras. Los lactobacilos se fijan en las células del epitelio escamoso y las levaduras, en las células del epitelio secretor. Se pueden encontrar también anaerobios en muy pequeño número en zonas protegidas.

El estómago constituye una barrera que regula la entrada de microorganismos en el tubo intestinal, especialmente de los patógenos, a no ser que resistan la acidez, como las micobacterias. Sin embargo, cuando ésta disminuye por cualquier causa, puede modificarse esta función de barrera y aumentar la flora. Ocurre fisiológicamente después de las comidas, cuando se produce hipoclorhidria o aclorhidria (cáncer gástrico, anemia perniciosa), el tránsito es rápido (resección gástrica) o se produce reflujo de bilis (obstrucción intestinal).

En el *duodeno* y primeros tramos del *intestino delgado* (yeyuno), existe una flora escasa (10^4-10^5/ml), muy semejante a la del estómago integrada fundamentalmente por bacterias grampositivas anaerobias facultativas y levaduras *(Lactobacillus, Streptococcus, Corynebacterium, Candida).* Más adelante, al disminuir la acidez y el peristaltismo, el número de bacterias aumenta progresivamente, empiezan a aparecer anaerobios y bacterias libres en el contenido intestinal y al final del íleon existe un número semejante de aerobios y anaerobios, cuya composición se hace más parecida a la del colon.

La escasez de la flora en el *intestino delgado* no parece debida a la bilis, sino más bien al tránsito rápido como consecuencia del peristaltismo intestinal. Mientras que la derivación de la bilis altera poco la flora, las modificaciones del peristaltismo la aumentan rápidamente; ocurre en las zonas

de tránsito más lento, como en la extremidad del íleon (10^6), o cuando existen divertículos.

Por otra parte, el aumento en la cantidad de bilis por procesos obstructivos altos, aun cuando no modifica mucho el número de bacterias, actúa como un factor selectivo y estimula el desarrollo de las especies resistentes, como *S. faecalis, Proteus, S. typhi, C. perfringens* y *B. fragilis*.

En el *intestino grueso*, el número de bacterias aumenta extraordinariamente debido a la presencia de residuos no absorbibles procedentes de los alimentos (celulosa, aditivos) y del propio organismo (moco, restos celulares, secreción biliar), y puede considerarse como un tanque de fermentación o un quimiostato.

La flora bacteriana es enorme (10^{11}-10^{12}/ml) y muy variada. En el pasado se dio una importancia exagerada a las enterobacterias, en especial a *E. coli*, que se consideró como el principal componente de la flora intestinal, pero más adelante se pudo demostrar el predominio absoluto de los anaerobios (la relación aerobios-anaerobios es de 1/10 en el colon transverso y de 1/100 en las heces), en especial de bacilos gramnegativos no esporulados del género *Bacteroides*. Es debido a que el potencial de óxido-reducción, que ya es bajo, disminuye aún más por la proliferación bacteriana, lo cual permite el desarrollo de los anaerobios estrictos.

La flora está compuesta por anaerobios no esporulados (> 90 %), que pueden ser bacilos gramnegativos (*Bacteroides, Fusobacterium*), que son los más abundantes, cocos grampositivos (*Peptococcus, Peptoestreptococcus*) y bacilos grampositivos (*Eubacterium, Bifidobacterium*), con algunos bacilos grampositivos esporulados (*C. perfringens*). Los anaerobios facultativos se encuentran en mucho menor número (0,1-10 %) y están constituidos por *S. faecalis, S. aureus, Lactobacillus*, enterobacterias (*E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Proteus*) y *Pseudomonas*. Además, hay que añadir la presencia de hongos (*Candida*), a veces de protozoos (amebas y flagelados intestinales) o virus (rotavirus, enterovirus, adenovirus).

Bacteroides fragilis es la especie predominante en las heces, y cabe destacar que se encuentran además con gran frecuencia las especies *vulgatus* y *thetaiotaomicron*. La primera es la más frecuente en las infecciones, y suele aparecer asociada con otros anaerobios facultativos.

La flora de las heces es enorme, pues representa el 40 % de su peso. Contiene en general todas las bacterias del tubo digestivo, pero no en la misma proporción, y su composición es muy parecida a la del colon. Por la facilidad en la obtención de muestras es la flora mejor estudiada, pero no constituye un reflejo fidedigno de lo que ocurre en el tubo digestivo, especialmente de las partes altas.

Su composición está relacionada con la dieta, pues se ha observado que la dieta hiperproteica típica de los países desarrollados condiciona un mayor desarrollo de anaerobios estrictos en el intestino grueso, y se ha sugerido que la actividad metabólica de esta flora estaría relacionada con una mayor incidencia de cáncer de colon. Por el contrario, en los países con dieta hidrocarbonada, como la India, la flora del intestino delgado es más abundante (× 100), incluidas especies aerobias y anaerobias.

En las heces de la mayoría de la población se encuentran en menor proporción *C. perfringens* y *E. coli*, bacterias indicadoras de la contaminación fecal de las aguas.

Teniendo en cuenta la importancia de la flora intestinal, especialmente de la anaerobia, y la gran cantidad de enzimas y productos que vierten al tracto digestivo, es evidente que su existencia influye en la anatomía y fisiología del tubo digestivo (peristaltismo), en la nutrición (vitaminas), en el desarrollo del sistema inmunitario local (placas de Peyer, IgA secretora) y en la acción de barrera evitando o dificultando el establecimiento (adherencia, multiplicación) de los patógenos (*Salmonella, Shigella, V. cholerae*), especialmente cuando llegan en pequeño número. Por otra parte, puede intervenir en la producción de infecciones en zonas cercanas a la mucosa, donde las afecciones vasculares, intervenciones quirúrgicas, traumatismos, cuerpos extraños y tumores predisponen a las infecciones anaerobias.

Tracto genitourinario

El *aparato urinario* por lo general es estéril; sólo en el tercio anterior de la uretra masculina y en el meato existe una flora integrada por cocos grampositivos, difteromorfos y anaerobios; en la secreción prepucial se encuentran bacilos fusiformes y espiroquetas.

Por el contrario, en el *aparato genital femenino* existe flora bacteriana en la vagina y cuello del útero, cuya composición varía a lo largo de la vida y durante el ciclo menstrual (tabla 13-2). Antes de la pubertad, la flora está constituida por estafilococos, estreptococos, difteromorfos y bacilos gramnegativos. A partir de ella, las células de la vagina acumulan glucógeno, polisacárido que es fermentado por los lactobacilos (bacilos de Dödderlein), y queda como producto final ácido láctico, responsable de la acidez de la mucosa vaginal (pH 4,5) y de su papel de barrera. En la flora vaginal normal predominan los lactobacilos junto con escaso número de estreptococos (*S. faecalis*), levaduras (*Candida*), muy frecuentes en los casos de vaginitis, y anaerobios (*Peptococcus, Peptoestreptococcus, Bacteroides, Fusobacterium, Veillonella*), responsables de las infecciones en los casos de aborto provocado. Durante el embarazo, la flora del tracto genital aumenta (*Lactobacillus, Corynebacterium, Streptococcus* microaerófilos y anaerobios, *Bacteroides*).

Importancia de la flora normal

La flora normal por lo general es beneficiosa, pues las actividades metabólicas de algunos microorganismos pueden facilitar la digestión de productos no atacables por los fermentos digestivos y aun sintetizar nutrientes y algunas vitaminas (tiamina, piridoxina, riboflavina, vitamina K). Destaca el papel de la flora como barrera defensiva, la importancia de la flora oportunista y el interés de su conocimiento para la práctica e interpretación de los exámenes microbiológicos.

Barrera defensiva

La función colectiva más importante de la flora normal es su papel de barrera defensiva, impidiendo o dificultando la colonización por bacterias exógenas, en especial las patógenas.

En este sentido constituye uno de los factores más eficaces de la resistencia general inespecífica, como consecuencia de las interacciones de las diversas especies de la mi-

croflora entre sí y con el huésped, que dificultan el establecimiento de los patógenos. Es una acción sinérgica que puede ser debida a factores diversos: *a)* competición por un sustrato nutritivo o por un receptor celular; *b)* modificación de las condiciones físico-químicas (disminución del pH, del potencial de óxido-reducción), y *c)* producción de sustancias inhibidoras (bacteriocinas, ácidos grasos no saturados, sustancias de naturaleza antibiótica).

Por otra parte, algunas bacterias de la flora pueden inducir una respuesta inmunitaria local con la producción de anticuerpos (IgA secretora), de acción protectora frente al ingreso de aquellos patógenos que presenten antígenos comunes o relacionados (protección cruzada). Sin embargo, la flora residente, que se encuentra muy adaptada a la vida comensal, en general no produce reacciones inflamatorias ni respuesta inmune.

La administración por vía oral de antibióticos de amplio espectro, al destruir la mayoría de la flora, especialmente la anaerobia, que es la más sensible, anula la acción de barrera y selecciona las especies resistentes, que ante el vacío ecológico creado encuentran facilidades de multiplicación. Cuando se trata de bacterias de la propia flora con resistencia natural o mutantes cromosómicas, por lo general el riesgo es pequeño, pero, cuando son mutantes plasmídicas, el peligro es mayor, ya que pueden transferir los plásmidos de resistencia a otras cepas de la flora normal residente, con lo que aumenta el riesgo de su transmisión a cepas patógenas o potencialmente patógenas.

Animales libres de gérmenes y libres de patógenos

La importancia de la flora normal también se ha podido conocer estudiando lo que ocurre en animales que carecen de flora. Son los *animales «libres de gérmenes»* (animales axénicos), obtenidos antes del nacimiento mediante cesárea, aislados en cabinas estériles y mantenidos con alimentos esterilizados. En estas condiciones, los animales pueden crecer, desarrollarse y llegar al estado adulto e incluso alcanzar una mayor duración de la vida media. Sin embargo, se observa un retardo en el desarrollo del sistema linfoide y en la síntesis de inmunoglobulinas, de manera que, fuera de estas condiciones protectoras, presentan una gran susceptibilidad a las infecciones, con la excepción de la caries dental que no se presenta y de las infecciones por *Entamoeba hystolytica* que necesita la presencia de bacterias para desarrollarse. Aunque la obtención de «animales libres de gérmenes» es posible, es un método artificial muy difícil de mantener en la práctica.

En el hombre, una situación comparable se produce en el tratamiento de los enfermos inmunodeprimidos o con enfermedades hematológicas graves. Son enfermos muy susceptibles a las infecciones, que se deben asistir en unidades estériles empleando el método aséptico para prevenir las infecciones exógenas, asociado con un tratamiento combinado de antibióticos que destruya la flora normal y evite las infecciones endógenas, mientras dura el tratamiento.

La eliminación de la flora intestinal se efectúa administrando una asociación de diferentes antibióticos por vía oral. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta situación persiste poco tiempo y sólo mientras dura el tratamiento, pues algunas bacterias localizadas en nichos ecológicos profundos escapan a la acción de los antibióticos, y a partir de estas bacterias y de las que ingresan con la alimentación se produce la recolonización al cesar el tratamiento.

Por otra parte, si animales «libres de gérmenes» se colonizan selectivamente con bacterias comensales, se obtienen *animales «libres de patógenos»* (animales gnotoxénicos), que se caracterizan por su superior peso y talla, una mayor expectativa de vida y mejor capacidad reproductora; los descendientes son de mayor peso y tamaño y se observa una gran reducción de la mortalidad en edades tempranas. La obtención de animales libres de patógenos en la práctica se logra más fácilmente evitando el contacto con otros animales de la misma especie, mejorando las condiciones higiénicas, practicando inmunizaciones frente a las infecciones más frecuentes e incluso administrando con la alimentación pequeñas cantidades de antibióticos, que producen un aumento del desarrollo y una reducción de las enfermedades infecciosas durante el período de cría.

Esta situación se puede comparar con la de los habitantes de países desarrollados sanitariamente, donde las medidas de sanidad ambiental, los hábitos de higiene personal, las inmunizaciones y el tratamiento con antibióticos y quimioterápicos han logrado una gran disminución de las tasas de mortalidad por enfermedades infecciosas, especialmente de las más graves, y aun mediante el empleo de vacunaciones sistemáticas reducir la morbilidad a cifras mínimas para algunas enfermedades infecciosas (difteria, poliomielitis, tétanos, etc.) e incluso llegar a su erradicación (viruela).

Flora oportunista

En ocasiones, la flora normal puede ser perjudicial para el organismo que la alberga, no sólo dificultando los mecanismos de absorción de nutrientes, sino sobre todo interviniendo en procesos patógenos. Una parte de la flora normal se puede considerar compuesta por microorganismos potencialmente patógenos y puede dar lugar a infecciones diversas, cuando se produce una disminución de los mecanismos de resistencia del huésped por heridas, traumatismos, implantación de catéteres, administración de antibióticos de amplio espectro, etc. o un aumento de la acción patógena del microorganismo, como consecuencia de fenómenos de transferencia genética en las mucosas, que pueden aumentar la virulencia de la cepa (lisogenización, cambio de serotipo) o su resistencia a diversos antibióticos (transferencia plasmídica). En la actualidad gran número de infecciones son producidas por componentes de la propia flora del enfermo e incluso por microorganismos de vida libre (saprofitos), cuando disminuye la resistencia del huésped por cualquier causa; son las infecciones oportunistas, en su mayoría endógenas, tan frecuentes en los pacientes hospitalizados (infecciones hospitalarias o nosocomiales).

Análisis microbiológicos

El conocimiento de la flora normal es de gran interés para la práctica e interpretación de los análisis microbiológicos:

1. Para una correcta toma de muestras, que deberá ser selectiva y practicarse con la más completa asepsia, con

objeto de evitar la contaminación de la muestra por microorganismos de la flora normal de la piel y mucosas del enfermo o del operador. En los casos de punciones en zonas estériles del organismo (sangre, LCR) se deberá tener en cuenta que no siempre la desinfección de la piel es completa y pueden pasar a la muestra microorganismos localizados en zonas profundas de la piel (*S. epidermidis*, *Propionibacterium*).

2. Para interpretar debidamente los resultados de los exámenes y poder determinar si un microorganismo aislado es significativo de infección o puede tratarse de una contaminación. El aislamiento de *P. acnes* en un hemocultivo sugiere una contaminación a partir de la piel.

3. Para poder sospechar los posibles agentes causales, cuando se ha producido una infección o traumatismo cerca de una mucosa, e incluso tener una idea sobre la puerta de entrada, como ocurre con las bacteriemias por *B. fragilis*, que por lo general son de origen intestinal.

BIBLIOGRAFIA

Véase la del capítulo 17 (pág. 201).

Capítulo 14

Relación huésped-bacteria (II)

Agustín Pumarola

INFECCION. PODER PATOGENO Y VIRULENCIA. FACTORES DETERMINANTES DE LA ACCION PATOGENA: COLONIZACION

INFECCION

No existe una definición de infección que sea universalmente aceptada, lo que depende de la inclusión o no de la respuesta del huésped.

En su *concepto más amplio* se puede definir como «la entrada, establecimiento y multiplicación de bacterias en la superficie o en el interior de un huésped». En este sentido no representa más que el establecimiento de una relación huésped-bacteria, que puede tener diversos grados:

Colonización. Es el grado mínimo de relación, que comprende el establecimiento de bacterias en la piel o mucosas del huésped y su multiplicación en grado suficiente para mantener su número, sin que existan pruebas de respuesta clínica ni inmunológica del huésped, como ocurre con la presencia de estafilococos en la mucosa nasal o en general de microorganismos potencialmente patógenos en las mucosas.

Infección inaparente. En este caso, el establecimiento del parásito no va seguido de manifestaciones clínicas, pero induce en el huésped una respuesta orgánica específica, que se puede demostrar por pruebas serológicas. También se denomina «infección asintomática o subclínica».

Enfermedad infecciosa. Cuando, además, se producen alteraciones más o menos graves en el huésped, que se manifiestan por diversos signos y síntomas clínicos.

En la práctica es difícil distinguir entre colonización e infección inaparente, pues a veces no existen pruebas de laboratorio que permitan demostrar la existencia de una respuesta orgánica específica.

En un *concepto más restringido*, la infección comprende el establecimiento de bacterias asociado con una respuesta orgánica del huésped, que puede no expresarse clínicamente (infección inaparente) o ir acompañada de signos y síntomas clínicos (enfermedad infecciosa). En este caso, la colonización no se incluye en el concepto de infección.

La infección inaparente se presenta en general cuando el organismo es capaz de inducir una buena respuesta defensiva antes de que se alcance el número crítico de microorganismos necesarios para producir la enfermedad. Ocurre cuando el contagio y la infección se producen por un pequeño número de microorganismos, cuando son poco virulentos o existe un normal funcionamiento de los mecanismos de defensa del organismo. Por el contrario, cuando la dosis es elevada, los microorganismos son virulentos o existen circunstancias que deprimen los mecanismos de resistencia o interfieren en la respuesta inmune, se produce la enfermedad.

La enfermedad infecciosa y la infección inaparente se caracterizan por presentar una evolución semejante. Sin embargo, en ocasiones, después de la infección, el microorganismo puede continuar su multiplicación en grado suficiente, persistir en el organismo y aun ser eliminado al exterior comportándose como un comensal; es el estado de «portador», que a veces, si se examina detenidamente, puede demostrar una relación de parasitismo (forma crónica con síntomas mínimos).

Especificidad y postulados de Koch. Una propiedad de la infección es la *especificidad*. Cada microorganismo patógeno produce una infección determinada, imprimiendo al cuadro clínico un carácter especial relacionado directamente con el agente causal. La especificidad puesta de manifiesto desde los primeros estudios microbiológicos se plasmó en los célebres «postulados de Koch» que señalan las condiciones que se deben exigir a cualquier microorganismo para considerarlo como el agente causal de una infección determinada y así poder diferenciarlo de otros microorganismos no patógenos, en especial de los comensales de la flora normal:

1. El microorganismo debe encontrarse en todos los casos de la enfermedad.
2. Debe aislarse y obtenerse en cultivo puro, a partir de las lesiones.
3. Debe reproducir la enfermedad cuando se inocula, a partir de un cultivo puro, un animal de experimentación susceptible.
4. Debe aislarse el mismo microorganismo en cultivo puro, a partir de las lesiones producidas en el animal.

Más tarde se añadió un quinto postulado de tipo indirecto: «que el microorganismo induzca una respuesta inmune con la aparición de anticuerpos específicos en la sangre del hombre o del animal infectado que puedan demostrarse por pruebas serológicas».

Sin embargo, no siempre pueden cumplirse todos los postulados de Koch, en su mayoría por razones técnicas, y no por ello puede dejar de considerarse el papel del microorganismo en la etiología de la enfermedad, algunas veces por dificultades en demostrar el agente en las zonas del organismo con abundante flora normal, como el aparato respiratorio y digestivo, en otras por la imposibilidad de su cultivo *in vitro (Mycobacterium leprae, Treponema pallidum)* o por la falta de un animal susceptible *(S. typhi).*

PODER PATOGENO Y VIRULENCIA

Poder patógeno y virulencia son términos muy semejantes, aunque presentan algunas diferencias.

El poder patógeno, o patogenicidad, se refiere a la capacidad que poseen los microorganismos para producir una enfermedad, ya sea espontánea en el hombre o experimental en los animales de laboratorio; es, por tanto, un atributo general o cualitativo que se refiere a una especie microbiana y que permite compararla con las demás. *(S. typhi* y *S. pneumoniae* son patógenos y *Lactobacillus lactis* o *Bifidobacterium bifidus* no son patógenos.)

En cambio, el término virulencia se emplea para indicar el mayor o menor grado de patogenicidad entre las distintas cepas que componen una especie. Es un atributo cuantitativo, que introduce el concepto de grado; así, dentro de la especie *S. pneumoniae* pueden existir cepas de distinta virulencia.

En realidad, el término virulencia se refiere a cepas y el poder patógeno, a especies. Sin embargo, en la práctica, muchas veces, ambos términos se consideran sinónimos y se utilizan indistintamente.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que el poder patógeno o la capacidad de producir una enfermedad no dependen exclusivamente del microorganismo, sino también de características del huésped, ya que microorganismos muy patógenos para un huésped determinado pueden ser menos patógenos o apatógenos para otros, según su grado de resistencia orgánica. En consecuencia, como el poder patógeno o la enfermedad dependen de dos variables, se pueden expresar por un quebrado (fig. 14-1) en cuyo numerador se incluyen los factores dependientes del microorganismo, en especial su número y virulencia (que a su vez depende de su capacidad para colonizar, penetrar, multiplicarse, invadir y producir alteraciones patológicas), y en el denominador, el grado de resistencia del huésped (inespecífica y específica). En este sentido, la enfermedad podría producirse teóricamente, tanto por un aumento de la virulencia del microorganismo como por una disminución de los mecanismos defensivos del huésped. Aunque en algunos casos ha podido atribuirse exclusivamente a características del agente, se ha visto que en su mayoría depende más de las condiciones del huésped, lo que ha permitido explicar que también los microorganismos poco virulentos pueden ser patógenos cuando existe una disminución de los mecanismos de resistencia del huésped. Incluso se ha llegado a sugerir que cualquier microorganismo podría ser patógeno, siempre que se produjera una disminución suficiente de estos mecanismos de defensa.

$$E = \frac{N \times V}{R} = \frac{\text{(capacidad de colonización, penetración, multiplicación, invasión y lesional)}}{\text{Resistencia inespecífica y específica}}$$

Fig. 14-1. Factores de la virulencia y del poder patógeno. E, Enfermedad. N, Número. V, Virulencia. R, Resistencia del huésped.

Variaciones de la virulencia. La virulencia de una cepa no es un carácter estable, sino que puede variar como consecuencia de la aparición de mutaciones en el curso de su desarrollo y la presencia de factores que condicionan la selección de estas mutantes.

Puede aumentar por pases en animales susceptibles, que seleccionan las mutantes mejor adaptadas al crecimiento, multiplicación e invasión del animal. Algo muy parecido ocurre durante el comienzo de las epidemias, cuando la frecuente transmisión de la bacteria causal incrementa progresivamente su virulencia, dado que el huésped actúa como un mecanismo de selección de las mutantes más virulentas.

También puede variar por resiembras periódicas en medios de cultivo, que favorecen la selección de mutantes mejor adaptadas al nuevo medio, las cuales por lo general se encuentran asociadas con una disminución de la virulencia de la cepa para el hombre y los animales. Este método de atenuación ya fue utilizado a comienzos de siglo para obtener las primeras vacunas. Calmette y Guerin, después de 237 resiembras de una cepa virulenta de *Mycobacterium bovis* en patata glicerinada y biliada, lograron obtener la cepa atenuada BCG que se utiliza para la vacunación humana. Cuando las epidemias han afectado un porcentaje notable de población, la transmisión del agente a personas inmunizadas, que presentan en su suero y mucosas anticuerpos específicos frente a los antígenos superficiales responsables de la virulencia, inhibe el desarrollo de las cepas virulentas y favorece la selección de mutantes menos virulentas o avirulentas, que condicionan la terminación de la epidemia.

Para conservar la virulencia se aconseja cultivar las cepas en medios enriquecidos (suero, sangre), reduciendo el número de resiembras y conservando las bacterias a baja temperatura, al abrigo de la luz y del oxígeno. Un buen método es la congelación en un medio protector o mejor la liofilización. En estas condiciones, algunas bacterias conservan su viabilidad y propiedades originales (virulencia) durante largo tiempo.

Medida de la virulencia. Se determina por la dosis mínima necesaria para producir un efecto patológico, que por lo general es la muerte del animal inoculado, o dosis letal (DL). Para reducir al mínimo las variaciones individuales de la resistencia del animal, la virulencia se ensaya inoculando un lote numeroso de animales normales de la misma especie, utilizando, por su mayor precisión, la dosis mínima que produce la muerte del 50 % de animales inoculados, dosis letal 50 ó DL50; si se toma como punto final la producción de una infección, se obtiene la dosis infectiva 50 (DI50), que puede ser muy pequeña para *Mycobacterium tuberculosis* (1×10^1), moderada para *S. typhi* (1×10^4) o elevada para *Vibrio cholerae* (1×10^8). En virología se utiliza la dosis capaz

de producir alteraciones citopáticas en el 50 % de cultivos celulares (DITC50).

Microorganismos patógenos y oportunistas. Atendiendo a su acción patógena, los microorganismos se han dividido tradicionalmente en dos grandes grupos, patógenos y no patógenos, según fueran o no capaces de producir una enfermedad. Los patógenos a su vez se han diferenciado en patógenos verdaderos o estrictos y patógenos potenciales u oportunistas, según las condiciones del huésped.

Patógenos verdaderos o estrictos. Son aquellos que tienen la propiedad de colonizar y producir una enfermedad en huéspedes considerados normales, cuyas condiciones ecológicas no se han modificado o presentan una normalidad aparente. En estas condiciones son capaces de desarrollarse en el organismo, superar la acción de los mecanismos de defensa, establecerse y producir una acción patógena manifiesta.

Corresponden a los microorganismos patógenos clásicos, como *S. aureus, Streptococcus* del grupo A, *Neisseria gonorrhoeae, Salmonella, Shigella, Brucella, Corynebacterium diphteriae* y *Vibrio cholerae*. Se caracterizan en que:

1. Proceden de una fuente exógena, pues el contagio y la infección se producen a partir de enfermos, portadores y, menos veces, del medio ambiente.
2. Su acción patógena es debida en gran parte a factores dependientes del propio microorganismo, que en ocasiones se han podido determinar (toxinas, cápsulas).
3. Producen enfermedades infecciosas que se manifiestan por un cuadro clínico más o menos típico en relación con la especificidad del agente causal, el cual facilita su diagnóstico y permite orientar el tratamiento.

Patógenos potenciales u oportunistas. Son aquellos capaces de colonizar el organismo y producir enfermedad, sólo cuando se modifican las condiciones ecológicas normales del huésped y se produce un aumento de susceptibilidad. Las condiciones alteradas del huésped constituyen el factor determinante, pues representan una oportunidad necesaria para que estos microorganismos puedan expresar su acción patógena. Son debidas a factores que disminuyen o inhiben la eficacia de los mecanismos de defensa en el epitelio cutaneomucoso o en el medio interno como consecuencia de la existencia de una enfermedad o deficiencia previa y a la aplicación de técnicas instrumentales o de tratamientos diversos. Los más importantes se encuentran en el grupo de los bacilos gramnegativos *(Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus, Pseudomonas)*, cocos grampositivos (*S. epidermidis, Streptococcus* del grupo D), anaerobios *(Bacteroides)* e incluso virus *(Herpesviridae)*, protozoos *(Pneumocystis carinii)* y hongos *(Candida)*. Se caracterizan en que:

1. Proceden en general de una fuente endógena, ya de microorganismos de la propia flora normal o procedentes del exterior (otras personas, medio ambiente) que en la mayoría de los casos sólo producen la enfermedad después de un período de integración en la flora normal del enfermo, y menos veces directamente.
2. Su acción patógena es debida fundamentalmente a condiciones deficitarias del huésped, que de ordinario se pueden demostrar (enfermedades, técnicas instrumentales, tratamientos).

Tabla 14-1. Modelos de relación y poder patógeno

Poder patógeno \ Modelos de relación	Saprofitos	Simbiontes	
		Comensales y mutualistas	Parásitos *(sensu stricto)*
M. patógenos	+(*C. botulinum*)	+(portador)	+++
M. oportunistas	+	++	–
M. no patógenos	+++	++	–

3. Producen un cuadro clínico atípico que se sobreañade al proceso o estado que presenta el enfermo, caracterizado por su pobreza sintomática (aumento de la fiebre, agravación de los síntomas) o la aparición de episodios diversos, que muchas veces pasan inadvertidas, lo que dificulta el diagnóstico. Constituyen la mayoría de infecciones hospitalarias, que exigen el establecimiento de sistemas de vigilancia clínica o microbiológica para llegar a un correcto diagnóstico, tratamiento y control, y es esencial el tratamiento del proceso de base que condiciona el oportunismo.

Mientras que la mayoría de parásitos y pocos saprofitos *(C. botulinum)* o comensales (portadores) pueden considerarse patógenos verdaderos (tabla 14-1), un buen número de microorganismos que forman parte de la flora normal (comensales y mutualistas) y algunos saprofitos deben incluirse como patógenos potenciales u oportunistas.

Parásitos intracelulares y extracelulares. Por otra parte, las bacterias patógenas en su relación con las células pueden dividirse en parásitos extracelulares, intracelulares facultativos o intracelulares estrictos, según su capacidad de interferir en los mecanismos de defensa del huésped.

1. Las *bacterias extracelulares* se multiplican en los espacios intercelulares y la fagocitosis representa su rápida destrucción. Sólo pueden producir la infección si elaboran sustancias o presentan mecanismos que inhiban la fagocitosis, o el huésped presenta deficiencias en su sistema fagocitario que impidan la destrucción del parásito *(Staphylococcus, Neisseria, Bacillus, Clostridium)*.
2. Las *bacterias intracelulares facultativas* se multiplican en el medio extracelular y, si se produce la fagocitosis, presentan mecanismos que interfieren con los procesos de digestión intracelular y pueden permanecer viables durante mucho tiempo en el interior del fagocito, en especial de las células del sistema fagocitario mononuclear *(Mycobacterium tuberculosis, Brucella, Listeria)*.
3. Las *bacterias intracelulares obligadas* o *estrictas* sólo pueden multiplicarse en el interior de las células, que suministran la energía, las enzimas y parte de los mecanismos de biosíntesis *(Mycobacterium leprae, Rickettsia, Chlamydia)*.

Estas tres categorías son importantes porque de ellas dependen en gran parte la patogenia, diagnóstico y terapéutica de la enfermedad infecciosa correspondiente. En general, las bacterias intracelulares se caracterizan por producir con mayor frecuencia infecciones persistentes, ya sean crónicas, latentes o lentas, por intervenir de manera preponderante factores de inmunidad celular y porque en esta situación los microorganismos se encuentran protegidos y son más resistentes a los anticuerpos y también a los antimicrobianos.

FACTORES DETERMINANTES DE LA ACCION PATOGENA

Las bacterias para poder manifestar su acción patógena deben ser capaces de:

1. Llegar a la superficie del huésped por una puerta de entrada, colonizar el epitelio y resistir la acción de los sistemas locales de defensa: capacidad de colonización.
2. Atravesar la barrera cutaneomucosa para alcanzar los tejidos subepiteliales y ponerse en contacto con el medio interno: capacidad de penetración.
3. Multiplicarse en los tejidos del huésped interfiriendo con los mecanismos defensivos humorales y celulares del medio interno, lo que les permite establecerse e invadir el organismo: capacidad de multiplicación y de invasión.
4. Producir alteraciones y lesiones en las células y tejidos del huésped, responsables del cuadro patológico: capacidad lesional.

COLONIZACION

Las bacterias capaces de producir una acción patógena pueden proceder: *a)* del exterior y llegar al organismo por una puerta de entrada, que puede ser la piel o, con mayor frecuencia, las mucosas del aparato respiratorio, digestivo o urogenital (infección exógena), o *b)* del propio organismo, en especial de la flora microbiana normal (infección endógena). En este caso se trata de bacterias potencialmente patógenas u oportunistas, capaces de manifestar su acción cuando llegan a otros tejidos o concurren circunstancias que disminuyen la eficacia de los mecanismos de defensa.

En cualquier caso, para iniciar la infección, los patógenos deben fijarse o adherirse a las células y colonizar el epitelio.

Interacciones en el epitelio cutaneomucoso

En el epitelio cutaneomucoso, el primer obstáculo que las bacterias tienen que superar está representado por el estrato córneo de la piel y el moco y gel mucoso que recubre las mucosas, en las que existen diversos mecanismos defensivos (cap. 17). Están constituidos fundamentalmente por los sistemas mecánicos de eliminación (descamación del estrato córneo, sistema mucociliar del aparato respiratorio, peristaltismo intestinal), la presencia de fagocitos, sustancias bactericidas y anticuerpos locales (IgA secretora), así como por la existencia de una flora normal que actúa como barrera.

Las bacterias patógenas presentan mecanismos, en gran parte desconocidos, que les permiten evitar la acción de estas defensas locales, que son, en algunos casos, semejantes a los que actúan en el medio interno. En este sentido se conoce que las bacterias pueden presentar o producir:

1. Fermentos del tipo de mucinasas, glicosidasas o neuraminidasas *(Vibrio cholerae)*, que descomponen las glicoproteínas del moco, facilitando la penetración.
2. Factores de superficie (cápsulas, antígenos de la pared celular), que inhiben la fagocitosis y la acción de las sustancias bactericidas de la mucosa.
3. Proteasas IgA. Cierto número de bacterias patógenas *(N. meningitidis, N. gonorrhoeae, S. pneumoniae, H. influenzae)* son capaces de secretar enzimas proteolíticas, que descomponen las IgA subclase A1, y, por tanto, de inactivar el sistema de defensa local específico de las mucosas.
4. Sustancias inhibidoras y bactericidas, como las bacteriocinas, que les permiten competir con la flora normal.

Estos factores favorecen la penetración a través del moco y la implantación y adherencia de los patógenos a las células epiteliales.

ADHERENCIA BACTERIANA

La adherencia es una propiedad de gran número de bacterias que les permite su fijación a la superficie de las células (eucariotas o procariotas) y aun de materiales inertes. Constituye uno de los factores más importantes para la colonización de la piel y mucosas por la flora normal, y para la puesta en marcha de la infección y de la enfermedad infecciosa.

Fenómeno de adherencia

La adherencia es un fenómeno de superficie que supone la interacción de la bacteria con la célula. En la mayoría de los casos se considera como un fenómeno específico como consecuencia de la combinación de sustancias presentes en la superficie de las bacterias o adhesinas con receptores de la superficie de las células.

Adhesinas. Son compuestos de la superficie de las bacterias que actúan de mediadores del fenómeno de adherencia. Los estudios realizados han permitido demostrar que las adhesinas se encuentran asociadas con estructuras superficiales como las fimbrias o *pili* comunes, con polímeros extracelulares que forman la envoltura mucosa (glicocálix), con diversos componentes de la membrana externa (proteínas, lipopolisacáridos) e incluso con estructuras más profundas que pueden aflorar a la superficie (ácidos lipoteicoicos). Pueden ser de naturaleza proteica (fimbrias, proteínas de la ME), hidrocarbonada (glicocálix) o lipídica (ácidos lipoteicoicos, lipopolisacáridos).

1. En las *bacterias gramnegativas*, la adherencia es debida en la mayoría de los casos a la presencia de adhesinas en las fimbrias o en otras estructuras de la membrana externa.

Fimbrias. Son apéndices filamentosos de naturaleza proteica frecuentemente portadores de adhesinas, que presentan la propiedad de combinarse con receptores de naturaleza polisacárida localizados en la superficie de las células epiteliales mediante uniones del tipo azúcar-lectina. La zona combinante está constituida por un pequeño segmento de las subunidades proteicas de la fimbria (región aminoterminal).

Las fimbrias se pueden diferenciar por una serie de caracteres como el tamaño, peso molecular, composición en aminoácidos y poder inmunógeno, y, además y en relación con la presencia de adhesinas, por la capacidad de fijación selectiva en los receptores de diversas células y de diversas especies de hematíes responsables del fenómeno de hemaglutinación, por la naturaleza química de estos receptores y sobre todo porque la adición de receptores o de sustancias

Tabla 14-2. E. coli. Caracteres de algunas fimbrias que median la adherencia

Adhesina				Receptor	
Fimbria	Serotipo F	Origen de la cepa	Gene	(inhibición adherencia)	Aglutinación
Manosa-sensibles				*Glicoproteínas*	
Tipo 1	F1	Ubicuo	Cromosoma	d-Manosa	Hematíes de cobayo, caballo, cordero, humanos y levaduras
Manosa-resistentes		*Enteropatógenos*		*Glicolípidos*	Hematíes
K88	F2	Diarrea de lechones	Plásmido	Gangliósido GM1 (GalNac y GlcNac)	Pollo y cobayo
K99	F3	Diarrea de bóvidos	Plásmido	Gangliósido GM2	Caballo y cordero
987P	F4	Diarrea en lechones	Plásmido	–	–
CFAI	F5	Diarrea humana	Plásmido	Gangliósido GM2 [Gal Nac ß 1-4, Gal 1-4 glc cer]	Humanos, pollo, bovinos
CFAII	F6	Diarrea humana	Plásmido	–	Bovinos, pollo
E8775	–	Diarrea humana	Plásmido	–	Bovinos
		Uropatógenos			
P		Infección urinaria (90 %)	Cromosoma	Globotetraosyl ceramido (Gal α 1-4 gal)	Humano
Otras fimbrias	F7-F10	Infección urinaria (10 %)	–	–	–

análogas presenta la propiedad de inhibir específicamente el fenómeno de adherencia o de hemaglutinación. Las fimbrias de las enterobacterias se han clasificado en 6 tipos, de los cuales cuatro (tipos 1, 3, 4 y 5) se encuentran asociados con adhesinas, y las adhesinas de las fimbrias, atendiendo a su sensibilidad al monosacárido manosa, se han dividido, en general, en dos grandes grupos: sensibles y resistentes a la manosa.

Las *adhesinas o fimbrias manosa-sensibles, MS o fimbrias de tipo 1* son las más frecuentes y difundidas en las bacterias gramnegativas. Presentan la propiedad de combinarse con receptores que contienen d-manosa que, se encuentran en muchas glicoproteínas que existen en el moco, en gran número de células, incluidos los fagocitos, y en los hematíes de diversas especies de animales (cobayo, caballo, aves) y del hombre, produciendo el fenómeno de la hemaglutinación, reacción que es inhibida por la adición de d-manosa al medio o de sustancias análogas (mananos de levaduras). Estas fimbrias, por su capacidad de unirse a diversas células y tejidos, se consideran poco relacionadas con el poder patógeno, pero intervienen en el proceso de colonización, habiéndose demostrado en la mayoría de enterobacterias.

Las *adhesinas o fimbrias manosa-resistentes o MR*, por el contrario, son menos frecuentes y difundidas y se caracterizan porque producen la aglutinación de los hematíes, aun en presencia de d-manosa. Recientemente se ha demostrado que las fimbrias manosa-resistentes no forman un grupo homogéneo, sino que agrupan todas las fimbrias que se combinan con receptores específicos que no contienen manosa; es, por tanto, un grupo heterogéneo en el que se incluyen diversos tipos de fimbrias. Las fimbrias de *E. coli* más importantes asociadas con el poder patógeno en el hombre y los animales se relacionan en la tabla 14-2.

Hay que señalar las fimbrias K88 y 987P relacionadas con la diarrea de los lechones, las fimbrias K99 asociadas con la diarrea de los bóvidos y las fimbrias o factores de colonización CFAI, CFAII y E8775, relacionadas con la diarrea humana. Estas adhesinas reconocen receptores celulares formados por glicolípidos, pero cuya composición y especificidad aún no han sido estudiadas en detalle. Mención especial merecen los *E. coli* productores de infecciones urinarias y en especial de pielonefritis, que en el 90 % de casos presentan fimbrias P con la propiedad de aglutinar los hematíes humanos que contienen el antígeno P. Es un glicolípido, que se ha identificado con un globósido, el globotetraosilceramide o globotriosilceramide, que contiene un disacárido (Galα1-4Gal) que constituye el receptor.

Por otra parte, se han estudiado las fimbrias sobre una base serológica, y se han identificado doce serotipos de fimbrias (serotipos F), habiéndose observado que el serotipo (F1) está asociado con las fimbrias de tipo 1 o MS, los serotipos F2 a F6 lo están con las fimbrias MR de las cepas enteropatógenas para los animales y el hombre, y parece que los serotipos F7 a F10 están asociados con algunas cepas uropatógenas.

Las bases genéticas de la adherencia han sido especialmente investigadas en *E. coli*. Se ha visto que la síntesis de fimbrias está codificada por genes localizados en el cromosoma o en plásmidos y que su expresión fenotípica está modulada por factores ambientales (temperatura, pH, nutrientes, fase de crecimiento, presencia de antibióticos, etc.). Las fimbrias MS de tipo 1 y las fimbrias P de *E. coli* vienen codificadas por genes localizados en el cromosoma, mientras que las adhesinas MR asociadas con la acción patógena en el intestino del hombre y de los animales son codificadas generalmente por plásmidos.

Además de hallarse en *E. coli*, se han demostrado fimbrias MS en la mayoría de enterobacterias (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Salmonella, Shigella, Citrobacter* y *Erwinia*) y fimbrias MR en *N. gonorrhoeae, N. meningitidis, V. cholerae, B. pertussis, P. aeruginosa* y *P. mirabilis* (tabla 14-3).

Otras estructuras. Algunas bacterias gramnegativas no tienen fimbrias, pero presentan la capacidad de adherirse a los tejidos humanos o animales. En estos casos se ha pensado que las adhesinas podrían encontrarse en otras estructuras de superficie, especialmente en las proteínas de la membrana externa, en el lipopolisacárido e incluso en los flagelos. Así, en *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae* se han descrito adhesinas que estarían asociadas con *proteínas de la membrana externa. Mycoplasma pneumoniae* también presenta

Tabla 14-3. Adhesinas en diversas especies bacterianas

Especie bacteriana	Adhesinas	Receptores
Vibrio cholerae	Fimbrias (¿flagelo?)	Glucosa y manosa
Klebsiella aerogenes	Fimbrias de tipo 3	?
Proteus mirabilis	Fimbrias de tipo 4	?
Shigella flexneri	¿Lipopolisacárido?	Fucosa-glucosa
Pseudomonas aeruginosa	Fimbrias de tipo 5	?
Bordetella pertussis	Fimbrias	¿Esteroles?
Neisseria gonorrhoeae	Fimbrias	Gangliósido GD1
	Proteínas ME	(Gal ß1-3 Gal Nac-B1-4 Gal)
Neisseria meningitidis	¿Proteínas ME?	?
Mycoplasma pneumoniae	Proteína P1 de membrana	Acido siálico (glicoforina)
Staphilococcus aureus	LPT	?
Streptococcus pyogenes	LPT + proteína M	¿Seroalbúmina?
Streptococcus mutans	Proteínas fijadoras de glucano	¿Glucano?
Streptococcus sanguis	Fibrillas de LPT, proteína fijadora	¿Dextrano?
Chlamydia	?	N-acetilglucosamina

adhesinas situadas en la membrana que reconocen receptores que contienen ácido sialico (tabla 14-3).

Asimismo se ha sugerido que los lipopolisacáridos de las enterobacterias, cuyas cadenas de polisacáridos se extienden a distancia de la membrana externa, podrían intervenir en la adherencia *(Shigella flexneri)* e incluso que, en *Vibrio cholerae,* las adhesinas podrían estar asociadas con los flagelos, aunque estos hechos están pendientes de confirmación.

2. En las *bacterias grampositivas,* la adherencia se encuentra asociada a otros mecanimos, especialmente con la presencia de ácido lipoteicoico, glicocálix u otras estructuras en la superficie de la bacteria.

Acido lipoteicoico. La adherencia de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* del grupo A se encuentra asociada con la secreción de ácidos lipoteicoicos, que, teniendo su origen en zonas profundas cercanas a la membrana citoplásmica, aflorarían a la superficie de la bacteria, facilitando su fijación a las células de la mucosa nasal o faríngea, ya directamente *(Staphylococcus)* o formando complejos insolubles con la proteína M *(Streptococcus pyogenes),* que a manera de fibrillas los fijaría en los receptores de las células.

Glicocálix. Cierto número de bacterias grampositivas, cuando se desarrollan en medios apropiados, sintetizan polímeros extracelulares, en su mayoría polisacáridos insolubles, que por microscopia electrónica se observan como un entramado de fibrillas, que envuelve la bacteria formando una envoltura mucosa (glicocálix intrínseco) o se libera en los líquidos orgánicos (glicocálix extrínseco), y que intervienen en los fenómenos de adherencia. Se observa en las bacterias recién aisladas y generalmente se pierde en los subcultivos, lo que se considera como un mecanismo de fijación y de supervivencia en los medios naturales.

En *Streptococcus sanguis* y *S. mutans,* la adherencia a los coágulos de fibrina y a la superficie del diente sería debida a la secreción por la bacteria de polisacáridos extracelulares (glicocálix) del tipo dextrano o glucano, lo que representaría un ejemplo de adherencia probablemente menos específico entre un polisacárido bacteriano y una superficie orgánica. También se ha observado que las moléculas de estos polímeros (glucano) o de otros productos presentes en el medio pueden adherirse y formar una fina película en la superficie del diente o de otros materiales, comportándose como receptores específicos de proteínas superficiales de la bacteria (glucosiltransferasa, proteínas fijadoras de glucanos), que en este caso constituirían las adhesinas. De la misma manera, la adherencia de las bacterias a materiales inertes implantados en el organismo, como prótesis, catéteres y material de sutura, sería debida a la secreción de polímeros que actuarían por un mecanismo semejante.

Adhesinas múltiples. Aunque por lo general las bacterias presentan un solo tipo de adhesina, en ocasiones pueden presentar más de una al mismo tiempo.

En los meningococos y gonococos se ha demostrado la existencia de adhesinas en las fimbrias y en las proteínas de la membrana externa, de manera que en una primera fase se produciría una adherencia laxa a distancia y a continuación intervendrían las proteínas de la ME, que determinarían una adherencia de membrana a membrana mucho más amplia y firme.

También se ha observado que la mayoría de *E. coli* aislados de casos de pielonefritis manifiestan después del cultivo la presencia de dos tipos de fimbrias, fimbrias de tipo 1 (MS), que permiten la adherencia al moco urinario que recubre el epitelio y en particular a la glicoproteína de Horsfall y Tamm, y fimbrias P, que facilitan la adherencia a las células epiteliales del tracto urinario.

Receptores. Son compuestos que existen en la superficie de las células animales, que se combinan específicamente con las adhesinas bacterianas.

Las células de la mucosa están recubiertas por glicoproteínas y glicolípidos, de estructura fibrillar, que forman parte de la membrana y constituyen el glicocálix de la célula, que a su vez está recubierto por una capa de glicoproteínas ricas en mucina, secretadas por células especializadas del epitelio (células caliciformes) que forman el moco o gel mucoso.

Los receptores para las *bacterias gramnegativas* se encuentran en los carbohidratos del glicocálix de la membrana y también del gel mucoso, y se identifican sus lugares combinantes con residuos de azúcares (enterobacterias) o polímeros más complejos *(E. coli, N. gonorrhoeae),* con una configuración complementaria de las adhesinas.

Los residuos de azúcares constituyen el sitio activo del receptor, que a su vez forma parte de moléculas de glicoproteínas o de glicolípicos (gangliósidos, globósidos).

La naturaleza química de los lugares combinantes del receptor se ha podido determinar estudiando la capacidad inhibidora de diversas sustancias sobre la adherencia, y se ha observado que los monosacáridos u oligosacáridos que contienen d-manosa inhiben la adherencia de las enterobacterias que presentan fimbrias de tipo 1 (adhesinas MS), los que contienen l-fucosa inhiben la adherencia de *V. cholerae*, el disacárido (Gal α1-4 gal) inhibe las fimbrias P de *E. coli*, los gangliósidos GM1 y GM2, las de *E. coli* K88 y K99, y los gangliósidos con ácido siálico, las de *Mycoplasma*.

Los receptores para las bacterias grampositivas (*S. pyogenes*) son poco conocidos (tabla 14-3). Pueden encontrarse entre las proteínas o glicoproteínas de la membrana de la célula o de sustancias existentes en el medio de origen celular (mucina, fibronectina, seroalbúmina) o bacteriano (glucanos) que se adsorben en la superficie de las células. Cada vez se concede mayor importancia a la fibronectina, glicoproteína muy ubicua, que se encuentra en forma soluble en el plasma y líquidos orgánicos, y en forma insoluble en la superficie de las células, que, si bien en ocasiones enmascararía la adhesinas de la célula, en otras, como ocurre en la cavidad bucal, presentaría la propiedad de combinarse con diversas bacterias grampositivas (*S. aureus, S. pyogenes, S. mutans, S. salivarius*), en especial con el ácido lipoteicoico que constituye la adhesina de los estreptococos, lo que no ocurre con las bacterias gramnegativas (enterobacterias, pseudomonas). La disminución del nivel de fibronectina en los enfermos hospitalizados podría explicar la colonización por gramnegativos que se observa en estos casos.

Mecanismo. La adherencia es un fenómeno de interacción de superficies, en el que intervienen factores físicoquímicos y biológicos (teoría coloidal de Derjaguin y Landau, Verwey y Overbeek).

La adherencia requiere el contacto de la bacteria con la célula, pero, como ambas superficies son electronegativas, se crea una fuerza de repulsión, que sólo es neutralizada en parte por débiles fuerzas de atracción (fuerzas de Van der Waals, enlaces iónicos, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas), lo que da por resultado la formación de una barrera electrostática que dificulta la aproximación. La presencia en la superficie de la bacteria de moléculas hidrofóbicas y en especial de adhesinas, que por su pequeño tamaño no están sujetas a las fuerzas de repulsión, permite neutralizar esta barrera y facilitar el contacto.

Por otra parte, se ha observado que las moléculas de adhesinas pueden presentar configuraciones complementarias de los receptores celulares, lo que les permite aproximarse a distancias cortas, combinarse en forma esteroespecífica y formar numerosos enlaces independientes que aumentarían la fortaleza de la unión. Su naturaleza no se conoce con certeza, pero se considera que, en la mayoría de los casos, la adherencia es un fenómeno específico, del tipo antígeno-anticuerpo o azúcar-lectina, pues se puede inhibir por la adición de moléculas libres de cualquiera de los dos componentes (adhesinas o receptores purificados) o de sustancias análogas.

Una vez producida la adherencia, la bacteria puede a su vez adherirse a otras bacterias de la misma o diferente especie por un mecanismo semejante (adherencia entre células procariotas o fenómeno de coagregación), dando lugar a la formación de microcolonias o de acúmulos de bacterias en la superficie, lo que fortalece y estabiliza la colonización.

Tropismos y especificidad

Como la adherencia en la mayoría de los casos es un proceso específico, la *distribución de los receptores* en el hombre y los animales explicaría los tropismos y localización de las bacterias en la colonización y en la infección.

Se podría distinguir una *especificidad de especie* cuando los receptores se encuentran en las células de una misma especie animal, de manera que sólo se producirían infecciones en esta especie. Es el caso de *E. coli* K88, que sólo produce diarreas en los lechones y de *E. coli* CFA I y II que produce diarreas en el hombre. Dentro de una misma especie, su distribución en el organismo podría ser variable, de manera que, cuando los receptores se encontraran en las células de un determinado tejido, existiría una *especificidad o tropismo tisular*, como en las *E. coli* con fimbrias P, cuyos receptores sólo se encuentran en las células del tracto urogenital, en los meningococos que se fijan en las células secretoras de moco del tracto respiratorio superior, en *S. salivarius* que se fijan en la mucosa de la boca, en *S. sanguis* y *S. mutans* en el diente, etc., o una localización menos específica, cuando los receptores se localizaran en células de diversos tejidos e incluso en las glicoproteínas del moco, como ocurre con las fimbrias del tipo 1 o MS de la mayoría de enterobacterias.

Además de su distribución, es importante la *densidad de receptores* en las células del organismo o en un tejido determinado, que podría estar relacionada con una mayor susceptibilidad a la infección. En los *E. coli* uropatógenos, los receptores se encuentran en los hematíes humanos y en las células del epitelio urinario de las personas que pertenecen al grupo sanguíneo P en cualquiera de sus fenotipos (P1, P2, PK), a excepción de los raros casos del fenotipo $\bar{P}$ que carecen de dicho receptor. Estudiando el fenotipo P se ha observado que las células del fenotipo P1 contienen una mayor densidad de receptores, lo que estaría relacionado con una mayor predisposición genética a la infección urinaria.

Por otra parte, la adherencia de las bacterias a los materiales inertes podría considerarse como un fenómeno menos específico o inespecífico, como ocurre en la adherencia a los dientes y a diversos materiales implantados en el organismo. Se ha estudiado la adherencia de los estreptococos a los dientes, especialmente de *S. mutans*, que, en presencia de una dieta con sacarosa, interviene en la formación de la placa dental y probablemente de las caries. Esta bacteria sintetiza enzimas extracelulares que desdoblan la sacarosa (invertasa) y a partir de la glucosa y por medio de la glucosiltransferasa forman polímeros insolubles, glucanos y fructanos, que intervienen en la adherencia y formación de la placa dental. Se ha observado que en la superficie del diente se forma rápidamente una fina película de productos de origen salival (mucina, lisozima, fibronectina, Ig) o bacteriano y que en presencia de una dieta rica en sacarosa se produciría un predominio en la fijación de glucanos, que en este caso actuarían como receptores de las proteínas de superficie de *S. mutans* (proteínas fijadoras de glucanos, glucosiltransferasa), fijando la bacteria al diente. Asimismo, los glucanos de la bacteria pueden actuar como adhesinas fijando otras bacterias de la misma o diferente especie (*S. sanguis, S. mitis, Actinomyces viscosus, Veillonella*, etc.), que contribuyen a la formación de la placa dental.

Por otra parte, la adherencia de las bacterias a los materiales inertes implantados en el organismo (prótesis, catéte-

res, anastomosis, etc.) se considera debida a un mecanismo semejante. Las bacterias productoras de polímeros extracelulares (glicocálix, capa mucosa) formarían una fina película de moco en la superficie de estos materiales, dependiendo de su estructura y composición, que a su vez podrían comportarse como receptores específicos de compuestos superficiales de estas bacterias o, por sus propiedades de hidrofobia, producir la adherencia por mecanismo inespecíficos. La observación de que, cuando se extraen estos materiales del organismo, muchas veces se encuentran recubiertos por una masa bacteriana mucosa fuertemente adherida apoya esta teoría.

Adherencia y colonización

La colonización de las mucosas es un proceso complejo, en el que, además del fenómeno de adherencia, intervienen otros factores que condicionan la llegada y contacto de las bacterias con la superficie epitelial.

La adherencia de la flora normal es debida probablemente a mecanismos diversos y, en gran parte, desconocidos. La mayoría de estudios se han efectuado por microscopia electrónica de barrido en el tubo digestivo de animales, y se ha observado que, en las zonas más activas de la mucosa, en continuo movimiento y recambio (movimientos peristálticos, de las microvellosidades), es necesaria la existencia de mecanismos que aseguren una adherencia firme con el glicocálix o la membrana de las células, incluso mediante la formación de estructuras especializadas, mientras que en las zonas poco activas pueden formarse adherencias menos firmes y ser suficiente en ocasiones la fijación en los receptores del gel mucoso.

La adherencia representa una ventaja ecológica para las bacterias de la flora normal, pues:

1. Impide su eliminación por los factores mecánicos de la piel y mucosas, asegurando su supervivencia.
2. Las sitúa en un nicho ecológico en condiciones físicoquímicas y nutritivas adecuadas, cerca de la fuente de nutrientes, que por lo general tienden a concentrarse en las superficies y en la interfase sólido/líquido.
3. Facilita su desarrollo y multiplicación, dando lugar a la formación de microcolonias, que potencian sus funciones biológicas, como comensales y mutualistas, y contribuyen a la colonización y establecimiento de una flora normal, equilibrada y estable.

Adherencia e infección

La infección es un proceso secuencial cuya primera etapa sería la fijación y colonización de las bacterias patógenas en las células epiteliales de la puerta de entrada. Supone la presencia de factores que facilitan la penetración a través del gel mucoso, los cuales ya se han considerado, y de adhesinas que les permitan competir con la flora normal por los receptores de la membrana de las células epiteliales.

La adherencia de las bacterias patógenas al epitelio evita su eliminación por los factores mecánicos y facilita su desarrollo y multiplicación, lo que representa no sólo una protección frente a los agentes externos (otras bacterias, fagos, fagocitos, antibióticos, sustancias inhibidoras), sino que, además, les permite alcanzar el número crítico de bacterias o la concentración adecuada de productos (fermentos, antígenos, toxinas) para poder iniciar la infección (infección aguda o subaguda).

Por otra parte, en la *adherencia a los materiales inertes* implantados en el organismo, el papel de estos materiales es el de ofrecer una superficie bien protegida, dependiendo de su estructura y composición, donde las bacterias puedan fijarse, multiplicarse y sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares (glicocálix), dando lugar a la formación de microcolonias constituidas por una o diversas especies bacterianas fuertemente adheridas por el glicocálix a estos materiales. Esta capa mucosa se puede demostrar en las infecciones de los catéteres y prótesis, y si bien las bacterias se encuentran protegidas de los mecanismos naturales de defensa y de los antibióticos, también queda limitada su capacidad de difusión o la de sus productos (toxinas) a los tejidos vecinos, dando lugar a la producción de infecciones crónicas, persistentes y poco invasivas, en las que un tratamiento antibiótico de acuerdo con la susceptibilidad de la bacteria *in vitro* modifica poco la infección, que por lo general sólo puede resolverse por la extracción del material infectado.

El estudio de la relación entre adherencia e infectividad ha demostrado que en la mayoría de los casos existe un alto grado de correlación tanto en las infecciones invasivas como por toxinas (tabla 14-4). En general se ha observado que cepas de *N. gonorrhoeae, Salmonella, Proteus mirabilis* y *E. coli* enterotoxígeno, con una buena capacidad de adherencia *in vitro*, presentan un alto grado de infectividad *in vivo*. Se ha demostrado en voluntarios que la administración de una variante de *E. coli* enterotoxígeno, que había perdido la capacidad de adherencia, pero conservaba la de producir enterotoxina, fue incapaz de producir diarrea, a diferencia de la cepa original, lo que señala la importancia de la liberación de toxina a nivel de la célula diana (enterocito) para la producción del cuadro.

Por otra parte, se ha sugerido que los fenómenos de adherencia también intervienen en las *infecciones bacterianas secundarias*, sobre todo en relación con la presencia de receptores accesibles en las células de la mucosa. Se ha señalado que las alteraciones fisiológicas o patológicas de las células epiteliales producidas como consecuencia de la infección primaria podrían aumentar su capacidad de adherencia para otras bacterias por pérdida de ciertas sustancias de la superficie de la célula (fibronectina), que impedirían la accesibilidad de los receptores a las bacterias, o mediante la formación de nuevos receptores, como se supone que ocurre en las células infectadas por virus.

En este sentido se ha observado que, en el curso de las virosis respiratorias, las células epiteliales infectadas presentan una mayor capacidad de adherencia para determinadas especies bacterianas (*S. pneumoniae, S. aureus, H. influenzae*) y que, en los enfermos graves, las células de la mucosa orofaríngea tienen aumentada su adherencia para los bacilos gramnegativos; se ha comprobado que la adherencia de *Pseudomonas aeruginosa* se encuentra asociada con una disminución de la fibronectina celular, que actuaría como un factor modulador no inmune de la adherencia bacteriana. Estos hechos permitirían explicar la patogenia de las infecciones bacterianas secundarias en las virosis y la colonización de las vías respiratorias superiores por bacilos gramnegativos en los enfermos hospitalizados, etapa previa para el desarrollo de procesos neumónicos.

Tabla 14-4. Colonización específica e infección

Bacteria	Adhesinas	Fijación en	Infección
E. coli	Fimbrias de tipo I	Epitelio urinario (ratón)	Cistitis
E. coli	Fimbrias P Fimbrias P + de tipo 1	Epitelio urinario (hombre, ratón)	Pielonefritis
E. coli enterotoxigena	CFAI y CFAII	Epitelio del intestino delgado (hombre)	Diarrea
N. gonorrhoeae	Fimbrias y proteínas ME	Epitelio uretral y cervical	Uretritis, cervicitis
Pseudomonas aeruginosa	Fimbrias	Endocardio	Endocarditis (adictos a heroína)
Streptococcus sanguis	Proteínas fijadoras	Endocardio	Endocarditis (ratón)
Streptococcus mutans	Proteínas fijadoras de glucano (glucosil-transferasa)	Esmalte dental	Caries
Streptococcus pyogenes	LPT + proteína M	Faringe	Faringitis
Staphylococcus coagulasa-negativo	?	Catéter	Sepsis

Los datos anteriores indican que la capacidad de adherencia es uno de los factores determinantes de la acción patógena; sin embargo, no constituye un factor indispensable para la infección, pues, si se anulan o reducen los mecanismos de defensa de la mucosa (factores mecánicos, fagocitos, flora normal) por cualquier causa, bacterias sin capacidad de adherencia pueden multiplicarse e incluso producir una acción patógena. En consecuencia, la capacidad de adherencia representa una ventaja ecológica para la colonización e infección, pero no constituye un requisito imprescindible.

Por último, las bacterias también pueden *adherirse a los fagocitos*, lo que constituye el primer paso para su incorporación y destrucción. El carácter hidrofóbico de las superficies es el factor determinante del contacto, pero, además por reacciones de inhibición con diversas sustancias, se ha observado que también intervienen fenómenos específicos (adhesinas), de manera que la misma adhesina podría facilitar la infección y más tarde la fagocitosis o estos dos fenómenos dependerían de mecanismos distintos.

Se ha señalado en algunas bacterias la existencia de adhesinas que presentan la propiedad de fijarse no sólo en las células epiteliales, sino, además, en la membrana de las células fagocitarias, lo que facilitaría la fagocitosis, como ocurre con las fimbrias de tipo 1 de *E. coli*, las fimbrias de *P. mirabilis* y el ácido lipoteicoico de *S. pyogenes*, y que la presencia de más de un tipo de adhesinas (adhesinas múltiples), si bien sería ventajosa para la colonización en que se precisa la máxima capacidad de adherencia, podría ser perjudicial para la bacteria en etapas más avanzadas si favorece la fagocitosis.

Ahora bien, las bacterias pueden evitar la fagocitosis por dos mecanismos: *a)* la síntesis de cápsulas o capas mucosas que enmascaren las adhesinas y eviten su fijación en los receptores del fagocito, o *b)* la represión de la expresión de las adhesinas, fundamentalmente por la aparición de variantes no fimbriadas.

Se ha observado que las bacterias pueden sufrir variaciones *in vitro*: variaciones genotípicas irreversibles por mutación o pérdida del plásmido que codifica las adhesinas, pero sobre todo variaciones fenotípicas reversibles, por la acción de factores externos. Así, es conocido que las cepas capsuladas, cuando se conservan en el laboratorio, pierden la capacidad de sintetizar la cápsula que recuperan cuando se inoculan a un animal de experimentación. De la misma manera, las cepas con fimbrias de tipo 1 de *P. mirabilis* y *E. coli* pueden sufrir variaciones fenotípicas en el curso de su ciclo de crecimiento, de manera que en la fase logarítmica se produce predominio de bacterias no fimbriadas y en la fase estacionaria, predominio de bacterias fimbriadas.

Estas variaciones también se han demostrado *in vivo*. Así, se ha observado que los meningococos virulentos aislados de la sangre en los casos de sepsis forman colonias transparentes, presentan disminuida su capacidad de adherencia y son más serorresistentes, lo que es debido a la presencia de una cápsula que enmascara las adhesinas de la ME y evitaría la fagocitosis, mientras que los aislados de portadores nasofaríngeos presentan una mayor capacidad de adherencia y se desarrollan formando colonias opacas.

En la pielonefritis experimental de la rata por *P. mirabilis* se han aislado del epitelio de la pelvis renal cepas fimbriadas, mientras que del parénquima renal, sólo cepas que no presentan fimbrias. Estos hechos sugieren que, en la fase inicial de la infección urinaria, las cepas fimbriadas son las más importantes, pues son las que permiten la infección ascendente y la colonización de la pelvis renal, mientras que las no fimbriadas, al ser más resistentes a la fagocitosis, pueden multiplicarse e invadir el parénquima renal, siendo las más patógenas. Estas variaciones permiten a la bacteria adaptarse a las direrentes condiciones ambientales.

En la pielonefritis por *E. coli* uropatógenos se puede demostrar que la mayoría de las cepas eliminadas por la orina no tienen fimbrias y las adquieren después de 24 horas de cultivo en caldo, lo que indica que en el curso de su crecimiento en el parénquima renal se encontraba reprimida la capacidad de producir fimbrias. Estas cepas presentan en su mayoría adhesinas o fimbrias MS y P. Las adhesinas MS (fimbrias de tipo 1) parece que favorecen la persistencia de los *E. coli* en el reservorio intestinal y por su adherencia al moco urinario facilitan la colonización de la vagina, uretra y vejiga en las fases iniciales de la infección, pero en períodos más avanzados la síntesis de estas adhesinas se reprime, lo que evita la fagocitosis, pero las fimbrias P que se fijan al uroepitelio facilitan la multiplicación, la infección ascendente y más tarde la invasión.

Estos hechos son los que explican que, en el curso del proceso infeccioso, la presión en las condiciones ambientales son las que hacen que la bacteria exprese la síntesis de la cápsula o de una, dos o ninguna adhesina, lo que determina el éxito o fracaso del patógeno para colonizar la mucosa o evitar la fagocitosis.

Prevención de la adherencia

Teniendo en cuenta la importancia de la adherencia en la colonización e infección, se ha intentado llegar a la profilaxis de las enfermedades infecciosas en su fase inicial, interfiriendo en el proceso de adherencia, mediante tres tipos de medidas.

Inhibidores de la adherencia. Se ha observado *in vitro* que la administración de análogos de bajo peso molecular de las sustancias que intervienen en la adherencia, en especial del carbohidrato receptor, puede interferir en el fenómeno por inhibición competitiva. Así se ha podido inhibir la adherencia de *E. coli* con fimbrias de tipo 1 manosa-sensibles, por la administración de análogos de la manosa [metil-d-manopiranósido], y de *E. coli* uropatógenos con fimbrias P con análogos de los globósidos (globotetraosil). También se ha podido inhibir la adherencia de *S. mutans* al diente y la formación de la placa dental administrando inhibidores de la glucosiltransferasa, que evitan la polimerización de la glucosa y la formación de glucanos. La dificultad de su empleo *in vivo* deriva de la necesidad de que alcancen en el organismo concentraciones susceptibles de competir con éxito con los factores de adherencia.

Sin embargo, en el caso de *E. coli* uropatógenos, cuyo reservorio es el intestino, se ha sugerido la posibilidad de que puedan eliminarse selectivamente del tubo digestivo por la administración por vía oral de partículas de agarosa recubiertas de globósidos, que produciría la fijación de *E. coli* con fimbrias P y su eliminación por las heces antes de que tuvieran la oportunidad de infectar el tracto urinario.

Antimicrobianos. Por otra parte, se conoce que algunos antimicrobianos pueden afectar la capacidad de adherencia *in vitro*. Ocurre con los inhibidores de la síntesis proteica (tetraciclinas, aminoglicósidos, cotrimoxazol) o los que modifican la estructura de la pared celular (β-lactaminas), que actuarían produciendo una disminución de la síntesis o expresión de adhesinas o induciendo su liberación. En estos casos se ha observado que basta la administración de dosis subinhibitorias del antimicrobiano para que se produzca la inhibición de la adherencia sin que se afecte la viabilidad de las bacterias. Parece que las tetraciclinas inhiben la adherencia por fimbrias de tipo 1 de *E. coli* y el cotrimoxazol, la adherencia de *E. coli* uropatógenos. En modelos experimentales se ha visto que dosis subinhibitorias de vancomicina confieren una protección significativa frente a la endocarditis por *S. sanguis*. Se han efectuado pocos ensayos clínicos, pero algunos autores han obtenido buenos resultados con dosis bajas de cotrimoxazol o ampicilina en las infecciones urinarias recurrentes. Estos estudios se encuentran en su fase inicial y deben ser confirmados, ya que existen observaciones contradictorias.

Vacunas. Se ha estudiado la preparación de vacunas con suspensiones purificadas de adhesinas, en especial de fimbrias que induzcan la aparición de anticuerpos que inhiban específicamente la adherencia.

En los animales de abasto, se ha visto que la inmunización de las madres con una vacuna de fimbrias purificadas de *E. coli* K88 y 987 puede proteger a los lechones y terneros de la gastroenteritis por *E. coli*. Este tipo de vacunación indirecta de las madres para proteger a los recién nacidos se aplica en veterinaria con buenos resultados. Sin embargo, la vacunación indirecta de los adultos presenta dificultades, ya que la vacuna para ser eficaz debe inducir la aparición de anticuerpos locales (IgA) a nivel de la mucosa, que persistan durante largo tiempo, e incluir la mayoría de serotipos y las posibles variantes que se puedan presentar en las fimbrias. En este sentido se ensayan vacunas polivalentes que contengan los factores de colonización de *E. coli* [CFAI, CFAII y E8775] para la profilaxis de las gastroenteritis por *E. coli* enterotoxígenas y vacunas polivalentes de fimbrias P para la inmunización frente a las infecciones urinarias.

Interferencia con la flora normal

Los fenómenos de competición y antagonismo con los componentes de la flora normal son fundamentales para el establecimiento de los patógenos. La flora residente está plenamente adaptada a su hábitat o biotopo, presenta mecanismos de fijación al epitelio, obtiene del medio ambiente las sustancias nutritivas adecuadas para su desarrollo y multiplicación, y como consecuencia de su potencial metabólico crea condiciones ambientales (pH, rH, sustancias bactericidas) desfavorables. Los microorganismos patógenos se caracterizan en que, a pesar de su reducido número, son capaces de bloquear estos mecanismos inhibidores de la flora normal, lo que puede facilitarse cuando se producen alteraciones de la flora por mecanismos diversos.

BIBLIOGRAFIA

Véase la del capítulo 17 (pág. 201).

Capítulo 15

Relación huésped-bacteria (III)

Agustín Pumarola

FACTORES DETERMINANTES DE LA ACCION PATOGENA: PENETRACION, MULTIPLICACION E INVASION

PENETRACION

Las bacterias para manifestar su acción patógena necesitan, en la mayoría de los casos, penetrar en el organismo y atravesar el epitelio cutaneomucoso. Se pueden distinguir los siguientes casos:

Bacterias sin capacidad de penetración

Son las que no precisan atravesar el epitelio para expresar su acción patógena. Algunas bacterias son capaces de multiplicarse en la superficie del epitelio y producir una exotoxina soluble, que absorbida por la mucosa es la causa de la enfermedad, que puede tener una acción local *(Vibrio cholerae, Bordetella pertussis)* o general *(Corynebacterium diphtheriae)*.

Bacterias con capacidad de penetración pasiva

Son las que pueden atravesar el epitelio por mecanismo pasivo. La penetración puede realizarse (fig. 15-1):

1. A través del epitelio intacto, a consecuencia de la picadura de un artrópodo transmisor, que deposita o inyecta las bacterias patógenas directamente en la sangre o en el tejido celular subcutáneo, como ocurre en la peste (pulgas) y fiebre recurrente (piojos o garrapatas del género *Ornithodorus*).
2. A través del epitelio modificado, especialmente cuando se produce una alteración anatómica o funcional que facilita la penetración, ya por efracción de la barrera epitelial (erosiones, heridas, quemaduras, mordeduras, catéteres intravenosos), procesos inflamatorios de cualquier origen (infecciosos, tóxicos, alérgicos) o alteraciones de la flora normal (antibióticos de amplio espectro). Es el mecanismo utilizado por las bacterias potencialmente patógenas de la flora (infecciones endógenas).

Bacterias con capacidad de penetración activa

Existen bacterias capaces de penetrar en las células epiteliales y difundir a través del epitelio por un mecanismo poco conocido de endocitosis, semejante a la fagocitosis. Ocurre con las bacterias invasivas de los géneros *Salmonella, Shigella* y *E. coli*.

El prototipo de bacterias invasivas son las *Shigella* que presentan la capacidad de penetrar e invadir la mucosa del colon. En cultivos de células HeLa marcando las bacterias con torio coloidal, se observa la aparición de áreas de adherencia de la bacteria con la célula, seguidas de la puesta en marcha del proceso de endocitosis. Se produce un aumento del metabolismo glucolítico y de los procesos de fosforila-

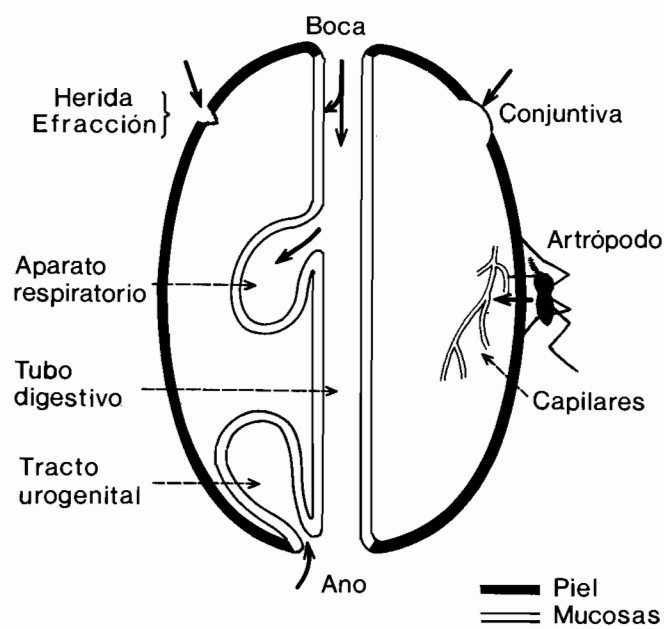


Fig. 15-1. Epitelio cutaneomucoso. Puertas de entrada y mecanismos de penetración. (Modificado de Mims, 1976.)

ción oxidativa de la célula con formación de microfilamentos y la incorporación de la bacteria por un mecanismo «en cremallera» con la formación de vesículas citoplásmicas.

Por investigaciones microscópicas en animales se ha podido observar que las bacterias se adhieren a las microvellosidades de las células del epitelio intestinal y que la penetración por endocitosis con formación de vesículas citoplásmicas va seguida de la degeneración y necrosis de la célula (*Salmonella*) y a veces (*Shigella*, *E. coli* invasivas) de la formación de microúlceras. Por el contrario, en *Neisseria gonorrhoeae*, la penetración no va seguida de la degeneración de las células del epitelio columnar. Se inicia por la invaginación de la membrana de la célula y la formación de una vesícula fagocítica que transporta el gonococo a la zona basal, liberándolo en la lámina propia.

Los determinantes del poder patógeno en la penetración están relacionados con la presencia de determinados factores o funciones codificados por el cromosoma o plásmidos. En *Shigella* y *E. coli* enteroinvasivas se ha demostrado la presencia de plásmidos de gran tamaño (140 Mdaltons) que codifican la síntesis de proteínas o polipéptidos de la membrana externa, que probablemente inducirían el proceso endocítico. En el gonococo, éste también estaría en relación con proteínas de la membrana externa, la proteína II condicionaría la adherencia y la proteína I (porina) sería transferida a la membrana de la célula y pondría en marcha el proceso de endocitosis.

Modalidades de infección según la capacidad de penetración

En relación con la capacidad de penetración se pueden distinguir tres modalidades de infección:

1. Las bacterias que no tienen capacidad de penetración, una vez adheridas, se multiplican en la superficie del epitelio y colonizan las mucosas, y la enfermedad es la resultante, por lo general, de la elaboración de una toxina soluble que difunde en el área local o general (*B. pertussis*, *C. diphtheriae*).
2. Las bacterias penetran en las células epiteliales, donde se multiplican alterando o destruyendo el epitelio que invaden por contigüidad, alcanzando incluso la lámina propia, pero sin afectar el tejido celular submucoso (*Shigella*, *E. coli* enteroinvasivos).
3. Las bacterias penetran a través del epitelio y llegan a la submucosa, donde se multiplican y difunden en el organismo, dando lugar a procesos localizados o generalizados (*S. aureus*, *S. typhi*).

La falta de capacidad de penetración explica por qué hay bacterias apatógenas o poco patógenas en condiciones naturales y muy patógenas por inoculación experimental. Si la bacteria presenta factores de penetración y carece de capacidad de invasión, dará lugar a un proceso infeccioso localizado, cuya localización dependerá de la puerta de entrada. Es la localización primaria.

MULTIPLICACION

Una vez que las bacterias han atravesado la barrera epitelial, en una segunda etapa tienen que multiplicarse y establecerse en los tejidos para alcanzar el número crítico que les permita iniciar la infección, invadir el organismo y desarrollar su acción patógena. Para ello, deben obtener del organismo los elementos nutritivos necesarios para su crecimiento y reproducción, sorteando o inhibiendo los mecanismos defensivos del huésped.

Las bacterias comensales y parásitas son heterotrofas, necesitan obtener del organismo (células, plasma, líquidos intercelulares) los elementos nutritivos (agua, compuestos orgánicos de carbono y nitrógeno, elementos minerales, oligoelementos y factores de crecimiento), así como las condiciones respiratorias (O_2, CO_2), de pH y rH, necesarias para la síntesis de sus propios componentes.

Cuando no encuentran en el organismo los nutrientes adecuados, las bacterias no pueden multiplicarse ni producir la infección. En estos casos se habla de inmunidad nutricional, de ausencia de receptividad del huésped o de inhospitalidad del medio interno. Pero, en general, la mayoría de bacterias hallan en los tejidos del huésped las sustancias nutritivas necesarias para su crecimiento y multiplicación.

Poco se conoce sobre las necesidades nutritivas y los factores que facilitan el crecimiento de las bacterias patógenas, pero se ha observado que la presencia de determinados nutrientes puede ser importante para su multiplicación y a veces su localización tisular y orgánica. Así, se sabe que:

1. El azúcar erythritol, que se encuentra en la placenta de los bóvidos, es un factor de crecimiento para *Brucella abortus*, la causa de su enorme multiplicación en el útero y de la producción de abortos.
2. La presencia de *sacarosa* en la boca estimula el crecimiento de *S. mutans*, la producción de glucanos y su fijación en el esmalte dental.
3. La *urea* o sus productos de descomposición estimulan el crecimiento de *Proteus mirabilis*, productor de ureasa, y su localización en el tracto urinario.
4. El *hierro* es fundamental para el desarrollo de la mayoría de especies bacterianas, pero en el organismo se encuentra en gran parte en forma combinada o no disponible, ya intracelular, como ferritina y hemosiderina, o extracelular, como transferrina en el suero y linfa y lactoferrina en la leche, secreciones y leucocitos polinucleares. Las bacterias patógenas son capaces de obtener el hierro a partir del hierro combinado, mediante la síntesis de sustancias quelantes o secuestradoras de hierro (sideroforos o quelinas). Estas sustancias pueden secretarse al exterior (enteroquelinas de *E. coli*, pioquelinas de *P. aeruginosa*), de manera que formando complejos en el hierro facilitan su penetración en la bacteria; en este proceso, las bacterias precisan, además, la síntesis de enzimas que liberan el hierro de las quelinas y de proteínas de la membrana externa, que constituyen los receptores para su fijación y penetración. En otros casos se encuentran formando parte de estructuras de la superficie de las bacterias, como las micobactinas de *M. tuberculosis*, que facilitarían el transporte del hierro a través de los lípidos de la membrana citoplásmica. Esto explica que la administración de algunos preparados de hierro o de sangre puede favorecer la multiplicación de las bacterias patógenas en el organismo, de la misma manera que por la adición de sangre en los medios de cultivo.

Para la aparición de una infección o enfermedad infecciosa, además de la multiplicación de las bacterias en el orga-

nismo, es muy importante su *rapidez* o *velocidad de crecimiento*. Cuando las bacterias pasan de medios pobres en hierro a medios con aporte suficiente aumenta su velocidad de crecimiento. El tiempo de duplicación de *E. coli* pasa de 35 a 10 min y el de *P. aeruginosa*, de 72 a 30 min. Esta pequeña reducción en el tiempo de generación supone grandes diferencias en el tamaño de la población bacteriana en un tiempo determinado que puede ser decisivo para el resultado de la infección, pues se puede producir la enfermedad antes de que el huésped haya podido desarrollar una respuesta inmune eficaz.

Si se inoculan dosis subletales de *E. coli* al cobayo, se observa la multiplicación de las bacterias durante unas pocas horas, seguida de su declinación coincidiendo con la aparición de los leucocitos polinucleares, pero si se administra a los animales un compuesto de hierro (hematina o citrato férrico amoniacal), las bacterias se multiplican más rápidamente y se produce la muerte del animal. En el kwashiorkor se ha observado que el tratamiento con compuestos de hierro aumenta las tasas de mortalidad.

Por otra parte, algunas bacterias pueden obtener el hierro directamente de la hemoglobina, sobre todo cuando se libera de los hematíes por hemólisis, como ocurre en los grandes traumatismos, enfermedades hemolíticas (paludismo, anemia por células falciformes) o infecciones por gérmenes productores de hemolisinas. En estos casos, la liberación de la hemoglobina predispone al padecimiento de infecciones graves, probablemente por aumento de la velocidad de crecimiento de las bacterias.

INVASION

Las bacterias patógenas en el curso de su multiplicación producen, como consecuencia de su metabolismo, diversas sustancias y enzimas que favorecen la difusión de la infección, ya interfiriendo en las defensas del huésped o facilitando la invasión del organismo.

Se han descrito diversos componentes estructurales y una gran variedad de sustancias solubles, tóxicas o atóxicas, antigénicas o no, que pueden contribuir a facilitar la capacidad de invasión de las bacterias; se han denominado con el término general de «agresinas». Sin embargo, al tener en cuenta su mecanismo de acción, se ha sugerido reservar el nombre de «agresinas» para las sustancias que facilitan directamente la invasión y designar con el de «impedinas» aquellas que actúan interfiriendo en las defensas del huésped.

Factores que interfieren en las defensas del huésped

Las bacterias patógenas se caracterizan en general por su capacidad de interferir en los mecanismos de defensa del huésped, lo que les permite iniciar la multiplicación y posteriormente invadir el organismo. En este sentido pueden ser capaces de resistir los sistemas inespecíficos de defensa, ya sean humorales o celulares, y a veces de interferir en la respuesta inmune.

Defensas humorales

Existen bacterias capaces de resistir la acción de las sustancias bactericidas del suero y de los humores (lisozima, betalisinas, complemento, etc.), lo que constituye una característica de las cepas virulentas. Los factores responsables de esta acción sólo se conocen en parte y muchas veces se encuentran asociados con la resistencia a la fagocitosis.

Se conoce que algunos componentes de las bacterias, como el peptidoglicano en general y las fracciones internas (lípido A) y central (*core*) del lipopolisacárido de las bacterias gramnegativas, estimulan los mecanismos inespecíficos de defensa, en especial activan el complemento por la vía alternativa y la fagocitosis.

Por el contrario, otros componentes, como las cápsulas, capas mucosas y los antígenos superficiales de las bacterias, por su hidrofilia y recubrir las estructuras anteriores protegerían la bacteria de la activación de estos mecanismos.

La resistencia a las sustancias bactericidas del suero en las bacterias gramnegativas se considera que es un proceso multifactorial en relación con el antígeno O y las proteínas de la membrana externa. Se ha señalado que las cadenas laterales del polisacárido que constituyen el antígeno O (fracción externa del LPS) presentan una gran variabilidad en cuanto a estructura, composición, hidrofilia y capacidad de activar el complemento por la vía alternativa, lo que explicaría las diferencias de virulencia entre los diversos grupos O y serotipos de enterobacterias. La hidrofilia conferiría una mayor resistencia a la fagocitosis y ciertas estructuras químicas, una mayor resistencia a las sustancias bactericidas del suero.

Recientemente se ha iniciado el estudio de las proteínas de la membrana externa (ME) y se ha demostrado que, además de su relación con la capacidad de adherencia de las bacterias, penetración y fijación de hierro, existirían proteínas modificables por el calor asociadas con la capacidad de invasión por su resistencia a las sustancias bactericidas del suero. Los gonococos aislados de infecciones generalizadas son más resistentes a las sustancias bactericidas del suero, lo que se supone debido a una proteína de la ME relacionada con un aumento de resistencia a la acción bactericida. En *E. coli* se ha demostrado que los plásmidos de resistencia a los antibióticos (Col V) confieren un aumento de resistencia a la acción bactericida del suero normal y que uno de los genes de resistencia (tra T) codifica una proteína de la ME, que facilitaría el consumo de complemento y, por tanto, inhibiría su acción lítica.

Defensas celulares (fagocitosis)

La mayoría de bacterias patógenas presentan compuestos o secretan sustancias que inhiben la fagocitosis en cualquiera de sus etapas. Aunque algunas bacterias (*Salmonella, Serratia, Pseudomonas*) pueden inhibir la migración de los fagocitos al foco de infección (quimiotaxis), en su mayoría intervienen en las fases de adherencia, ingestión y digestión intracelular (tabla 15-1).

Fase de adherencia e ingestión:

1. *Componentes estructurales*, que se encuentran en la superficie de las bacterias en forma de cápsulas, sustancias mucosas o componentes de la pared celular.

La *cápsula* polisacárida del neumococo (*S. pneumoniae*) constituye el ejemplo más conocido por su acción antifagocitaria, relacionada con la virulencia. La inoculación de neu-

Tabla 15-1. Componentes y productos de las bacterias que inhiben la fagocitosis (adherencia e ingestión)

1. *Componentes superficiales*
   - *a) Cápsula*
     - Polisacáridos
       - *S. pneumoniae*
       - *K. pneumoniae*
       - *H. influenzae*
       - *N. meningitidis*
     - Polipéptidos
       - *B. anthracis*
     - Polisacárido-proteína
       - *Y. pestis* (fracción 1)
     - Acido hialurónico
       - *Streptococcus* de grupos A y C
   - *b) Sustancias mucosas*
     - *E. coli* (antígeno K)
     - *S. typhi* (antígeno Vi)
     - *P. aeruginosa*
   - *c) Componentes de la pared celular*
     - *Streptococcus* de grupo A (proteína M)
     - *S. aureus* (proteína A)
     - *Enterobacteriaceae* (antígeno O)
     - *N. gonorrhoeae* (proteína II)
2. *Toxinas*
   - Leucocidina (Panton y Valentine)
     - *S. aureus*
   - Toxina α
     - *S. aureus*
   - Estreptolisina S
     - *Streptococcus* del grupo A
3. *Enzimas*
   - Coagulasa combinada
     - *S. aureus*

mococos capsulados al ratón por vía intraperitoneal permite observar a las pocas horas la presencia de neumococos libres en período de multiplicación activa, mientras que, si se inoculan neumococos acapsulados, se asiste a su rápida fagocitosis y desaparición. Cápsulas polisacáridas también se observan en *Klebsiella pneumoniae* y *H. influenzae*, pero, además, existen cápsulas de naturaleza polipeptídica en *Bacillus anthracis* (ácido poli-d-glutámico) y por complejos polisacárido-proteína en *Yersinia pestis* (fracción 1).

En otras ocasiones son *sustancias mucosas* que forman una fina cápsula que recubre la pared celular, como el antígeno K de *E. coli* o el antígeno Vi de *S. typhi*.

También pueden ser *componentes de la pared celular*, ya de naturaleza proteica, como la proteína M de los estreptococos del grupo A, o lipopolisacáridos, como los antígenos O de las enterobacterias.

No se conoce con seguridad el mecanismo de la acción antifagocitaria de estos compuestos, pues, además de factores puramente mecánicos por recubrir los sitios de activación del complemento (peptidoglicano y LPS) o enmascarar las adhesinas para los fagocitos, se ha sugerido que podría ser debido a las cargas eléctricas de superficie que evitarían el contacto o a que estos antígenos comunicarían características menos extrañas a la superficie bacteriana. Por otra parte, se ha observado que la presencia de ácido siálico en la cápsula, como ocurre en los meningococos y *E. coli* productores de meningitis e infecciones urinarias, aumenta la virulencia por su capacidad de inhibir la activación del complemento por la vía alternativa. Se considera que el ácido siálico facilitaría la unión del factor C3b ya fijado en la membrana con el factor inhibidor del suero B1 H, que bloquearía la activación de la secuencia final del complemento (C5 → C9) y, en consecuencia, la puesta en marcha del mecanismo de ataque a la membrana.

Cuando los polisacáridos capsulares se solubilizan en el medio, como ocurre con el neumococo (sustancia SSS), pueden combinarse con los anticuerpos específicos de nueva formación en los líquidos tisulares y evitar la sensibilización del neumococo a la fagocitosis.

2. También se comportan como inhibidores de la fagocitosis los *factores que facilitan la agregación* de las bacterias, como la proteína II de *N. gonorrhoeae* y la proteína A de *S. aureus*, que actuaría fijándose en el fragmento Fc de las IgG, facilitando su agrupación e impidiendo su fijación a los receptores del fagocito (fig. 27-2).

3. *Toxinas* que actúan destruyendo los leucocitos polinucleares, ya de manera específica, como la *leucocidina* no hemolítica de Panton y Valentine de *S. aureus*, o por acción citolítica general, como la toxina α de *S. aureus* y las estreptolisinas de *Streptococcus* del grupo A que afectan hematíes, leucocitos y otras células. Actúan produciendo la descarga y liberación de las enzimas lisosómicas en el citoplasma, lo que lleva a ocasionar la destrucción y lisis de la célula.

4. *Enzimas*. Se ha sugerido que algunas enzimas bacterianas, en especial la coagulasa combinada de *S. aureus*, que actúa sobre el plasminógeno, podrían formar una cubierta de fibrina en el estafilococo, obstáculo mecánico que, de existir, dificultaría el reconocimiento de la superficie de los fagocitos.

Fase de digestión intracelular. Algunas bacterias patógenas, cuando son fagocitadas, pueden presentar la propiedad de resistir la digestión intracelular por los fagocitos polinucleares o mononucleares.

La resistencia a la digestión en los leucocitos polinucleares de vida corta facilita su supervivencia y permite la multiplicación intracelular y su difusión cuando se produce la muerte del granulocito. Es una característica de las cepas virulentas de *S. aureus* y de *N. gonorrhoeae*.

La resistencia a la digestión en los fagocitos mononucleares de vida larga contribuye a la supervivencia de las bacterias productoras de infecciones agudas *(S. typhi, Y. pestis, N. gonorrhoeae)* y a la producción de infecciones crónicas *(Brucella, M. tuberculosis, M. leprae)*.

No se conoce el mecanismo de esta resistencia, pero en algunos casos *(M. tuberculosis)* se produce un bloqueo en la descarga de las enzimas lisosómicas en la vesícula fagocitaria debido probablemente a la liberación en el fagosoma de una sustancia inhibidora; de esta manera, no se forma el fagolisosoma y no se produce la lisis de la bacteria. En otros casos, las bacterias serían resistentes a las propias enzimas lisosómicas *(M. leprae murium)*.

Respuesta inmune

Se produce interferencia con la respuesta inmune cuando las bacterias presentan fenómenos de variación antigénica o una acción inmunodepresora.

Se ha observado que el agente causal de la fiebre recurrente, *Borrelia recurrentis*, sufre un proceso de variación

antigénica en sus antígenos superficiales a cada nuevo acceso febril y se hace resistente a los anticuerpos producidos durante el acceso anterior. Parece que un mecanismo semejante ocurre con *Campylobacter fetus* en los bóvidos.

En otras ocasiones, la infección puede presentar una acción depresora sobre la respuesta inmune, tanto humoral como celular, como probablemente ocurre en infecciones por *P. aeruginosa, M. tuberculosis, M. leprae* y *T. pallidum.*

Factores que favorecen la invasión

Por otra parte, se han descrito una gran variedad de sustancias solubles que las bacterias secretan al exterior, cuya importancia real como determinantes de la acción patógena no se conoce con certeza, pero se considera que algunas de estas sustancias aisladas o en combinaciones diversas pueden facilitar la capacidad de invasión y contribuir a un cierto daño celular o tisular. En su mayoría son enzimas hidrolíticas que actúan sobre las células y tejidos, como el tejido conectivo (hialuronidasas, colagenasas), o producen la despolimerización de proteínas, polisacáridos, lípidos o ácidos nucleicos (proteasas, mucinasas, lipasas, nucleasas). Algunas actúan sobre los procesos de coagulación y de fibrinólisis (coagulasas, quinasas) y otras inactivan anticuerpos (proteasas IgA 1) e incluso antibióticos (β-lactamasas, acetilasas, adenilasas). Entre las más importantes y conocidas se encuentran (tabla 15-2):

1. Hialuronidasas, que descomponen el ácido hialurónico, principal componente de la sustancia fundamental del mesénquima (gel → sol) y de la que forma el cemento intercelular, facilitando la difusión de las bacterias en los tejidos (*S. aureus, Streptococcus* del grupo A, *C. perfringens*).

2. Coagulasas. *S. aureus* secreta un profermento, que, en presencia de un factor del plasma semejante a la protrombina, forma la coagulasa, la cual transforma el fibrinógeno en fibrina. Es un fermento termoestable que se produce en forma libre y combinada por la mayoría de cepas virulentas de estafilococos (*S. aureus*).

3. Quinasas. Algunas bacterias producen una sustancia activadora (quinasa), que transforma un precursor del plasma (plasminógeno) en una proteasa (plasmina o fibrinolisina), la cual inhibe la coagulación del plasma y descompone los coágulos y mallas de fibrina. Es frecuente en *Streptococcus* del grupo A y está relacionado con la virulencia y capacidad de difusión. También se encuentra en *S. aureus* y otras especies bacterianas.

4. Lipasas, lecitinasas que descomponen los lípidos y alteran las membranas de las células. Algunas fosfolipasas forman parte de exotoxinas, como la fosfolipasa C que forma parte de la toxina α de *Clostridium perfringens* tipo A, principal responsable de la acción patógena y de los casos de gangrena gaseosa.

Patogenia

Vías de difusión

Las bacterias patógenas, una vez llegadas al tejido subepitelial, pueden multiplicarse y difundir en el organismo por contigüidad, vía linfática o sanguínea.

Contigüidad. La difusión por contigüidad en los epitelios, especialmente en la piel, se produce en las zonas húmedas (axilas, ingle, dedos del pie), donde son frecuentes las infecciones por bacterias y especialmente por hongos. En las mucosas cubiertas por líquidos y secreciones, la difusión es más fácil, sobre todo cuando existen alteraciones de los sistemas mecánicos de defensa. En las vías respiratorias superiores, la alteración del sistema mucociliar por infecciones víricas, inhalación de tóxicos, consumo de alcohol o un exceso de secreción mucosa por afecciones alérgicas predispone a infecciones de las vías respiratorias inferiores.

En los tejidos subepiteliales, la difusión por contigüidad depende de su capacidad de multiplicación y de la producción de enzimas y sustancias favorecedoras de la invasión (hialuronidasas, quinasas, proteasas). Los estreptococos del grupo A pueden difundir en el tejido celular subcutáneo y producir la erisipela. Las infecciones de las vías respirato-

Tabla 15-2. Enzimas bacterianas que facilitan la invasión y pueden intervenir en la acción patógena

Enzimas	Sustrato	Acción
Hialuronidasas	Acido hialurónico	Descomponen la sustancia fundamental y el cemento intercelular
Colagenasas	Colágeno	Descomponen las fibras de colágeno
Elastasas	Elastina	Descomponen el tejido conectivo fibroso
Coagulasas	Fibrinógeno	Transforman el fibrinógeno en fibrina
Quinasas	Fibrina	Descomponen la fibrina
Lipasas	Lípidos	Alteran las membranas celulares
Lecitinasas	Lecitina	Alteran las membranas celulares
Neuraminidasas	Acido neuramínico	Alteran las membranas celulares
Glicosidasas	Glicoproteínas	Descomponen el moco y gel mucoso, facilitando la penetración en mucosas
Mucinasas	Mucina	Descomponen el moco y gel mucoso, facilitando la penetración en mucosas
Proteasas	Proteínas	Descomponen estructuras celulares
Proteasas	IgA 1	Inhiben la función de anticuerpo (IgA 1)
Ureasas	Urea	Posible acción nefrotóxica
Dornasas	ADN	Transforman el ADN en nucleótidos y licúan el pus

rias superiores pueden llegar al oído medio (otitis, mastoiditis) y senos aéreos (sinusitis). De la misma manera, las infecciones pulmonares pueden afectar la pleura y las infecciones intestinales, el peritoneo.

Vía linfática. En el tejido subepitelial existe una red de vasos linfáticos permeables que transportan las bacterias a los ganglios regionales (cervicales, pulmonares, mesentéricos), los cuales constituyen zonas de filtración y eliminación por la gran cantidad de fagocitos que allí se encuentran, a la vez que son el lugar donde se inicia la respuesta inmune.

Sin embargo, este papel de filtro puede interferirse cuando el número de bacterias es muy elevado y éstas presentan sustancias que inhiben la fagocitosis o resisten la digestión intracelular. En este caso, los microorganismos pueden multiplicarse en el fagocito, que les sirve como medio de transporte *(Y. pestis, Brucella)*, especialmente para las rickettsias y virus. De esta manera, los microorganismos pueden alcanzar por la linfa eferente nuevas estaciones ganglionares, el conducto torácico y llegar a la sangre, donde difunden.

Vía sanguínea. El aparato circulatorio constituye un sistema cerrado difícilmente penetrable por las bacterias, si no se alteran físicamente sus paredes, en especial de la red capilar, que es la más frágil. Las lesiones traumáticas de los vasos por heridas, picaduras de artrópodos, catéteres intravenosos o una acción tóxica local pueden ocasionar su penetración directa en el torrente sanguíneo. El sistema circulatorio también puede ser invadido indirectamente a través del sistema linfático, pero es una vía más larga y difícil, obstaculizada por numerosas formaciones linfáticas.

La sangre constituye la vía más rápida de difusión, pues en poco tiempo las bacterias pueden alcanzar zonas alejadas del organismo y pasar a los tejidos y órganos; esto ocurre en los lugares donde la corriente sanguínea se hace más lenta, como en los capilares y sinusoides, especialmente en aquellas zonas donde las células endoteliales no forman un revestimiento continuo (hígado, bazo, medula ósea) o existe un endotelio fenestrado (glomérulo renal, plexos coroideos, íleon, colon). En estos casos, las bacterias pueden establecerse y formar nuevos focos de infección. Es la localización secundaria.

La bacteriemia constituye un paso ocasional o fugaz de bacterias a la sangre, como sucede durante las extracciones dentarias, la masticación (bacteriemia posprandial) o el cepillado de dientes. Son bacteriemias inaparentes sin manifestaciones clínicas, producidas de ordinario por bacterias potencialmente patógenas de la flora normal, que con rapidez son captadas y eliminadas por los macrófagos de los vasos y órganos internos, en especial del área esplácnica. Sin embargo, cuando existe una disminución general de los mecanismos de resistencia inespecíficos (inmunodeprimidos) o se producen alteraciones locales (procesos inflamatorios, traumatismos), las bacterias pueden localizarse e iniciar la infección, como ocurre en las válvulas cardiacas alteradas por un proceso anterior, dando lugar a una endocarditis, o en la metáfisis de los huesos largos en niños o adolescentes, en que a consecuencia de un traumatismo puede producirse una osteomielitis.

La *septicemia* o *sepsis* representa el paso masivo y constante de bacterias patógenas a la sangre a partir de un foco séptico, generalmente tromboflebítico. En estos casos hay que distinguir la puerta de entrada, de ordinario cutánea o mucosa, y la existencia de un foco de infección y de sepsis (tromboflebitis) que ocasiona el paso repetido y constante de bacterias a la sangre. Se presenta por lo general fiebre elevada asociada con un cuadro clínico grave, y existe la posibilidad de metástasis sépticas a distancia, en especial en el pulmón y diversos órganos (septicopiemia).

En otras ocasiones pueden producirse infecciones generalizadas de puerta de entrada digestiva y foco de infección ganglionar, con paso continuado de bacterias a la sangre (fiebres continuas, tipo fiebre tifoidea), y pueden establecerse focos secundarios en otros órganos o tejidos.

Las bacterias pueden circular por la sangre, libres en el plasma *(S. pneumoniae, B. anthracis)* o asociadas con los leucocitos neutrófilos (estafilococos, estreptocos) o los monocitos *(Mycobacterium, Brucella, Listeria)*. Las bacterias libres pueden ser eliminadas de la circulación por el sistema fagocitario mononuclear del área esplácnica, que sólo puede ser sobrepasado cuando el número de bacterias es muy elevado o éstas presentan mecanismos que inhiben la fagocitosis y los factores bactericidas del suero. Por el contrario, las bacterias asociadas con los leucocitos mononucleares, sobre todo cuando son capaces de desarrollarse en los macrófagos, pueden producir focos secundarios en el hígado, bazo y medula ósea, como ocurre en la brucelosis y la fiebre tifoidea.

A partir de la sangre, las bacterias pueden localizarse en la piel *(S. pyogenes, S. typhi, N. meningitidis, Treponema pallidum, Rickettsia prowazecki, R. mooseri)* y en diversos órganos (pulmón, riñón, hígado). A partir del pulmón y del intestino se pueden afectar las serosas (pleuritis, peritonitis), lo que constituye una vía de diseminación de la infección. En el 25 % de casos de neumonía neumocócica se produce una pleuritis con derrame.

También pueden alcanzar el *líquido cefalorraquídeo* si atraviesan la barrera hematoencefálica, sobre todo en los plexos coroideos *(S. pneumoniae, H. influenzae, N. meningitidis, Listeria monocitogenes, M. tuberculosis)*, dando lugar a la producción de meningitis y meningoencefalitis.

En la *gestante* pueden localizarse en los vasos de la placenta donde se multiplican y por acción local pueden facilitar el paso de productos tóxicos o de bacterias al feto, que, según la importancia de las lesiones y el momento de la gestación, pueden dar lugar a la interrupción del embarazo con la producción de abortos o la infección del feto (fetopatía).

Vía nerviosa. Aunque constituye una importante vía de difusión para los virus, no ocurre lo mismo con las bacterias. En el caso de *Neisseria meningitidis*, el mecanismo invocado de difusión por los nervios olfatorios a través de la lámina cribosa del etmoides para alcanzar el SNC parece poco probable; se considera en la actualidad más frecuente la difusión por vía sanguínea. Por el contrario, la vía nerviosa es el mecanismo utilizado por algunas exotoxinas, en especial la toxina tetánica, que a partir de los nervios motores periféricos difunde por las fibras nerviosas para alcanzar las neuronas motoras.

Localización tisular

Mientras que la localización primaria está condicionada fundamentalmente por la puerta de entrada y la capacidad

de adherencia a las células de la piel o de las mucosas, la localización secundaria de las bacterias en determinados tejidos (tropismos tisulares) es poco conocida, pero se considera que puede ser debida a la existencia de diferencias en la capacidad de adherencia en las células de diversos capilares y tejidos, así como a la presencia de factores mecánicos, nutrientes o deficiencias en los sistemas locales de defensa:

Adherencia. Las bacterias patógenas, además de su capacidad de adherencia a las células epiteliales de la puerta de entrada que facilitan el inicio de la infección y el desarrollo de procesos localizados en la piel y mucosas, también pueden fijarse específicamente en determinadas células o tejidos a distancia de la puerta de entrada, lo que explicaría su tropismo y los fenómenos de localización en las infecciones generalizadas.

Factores mecánicos. Se ha observado que las bacterias se fijan más fácilmente en las células endoteliales de los capilares y sinusoides, donde la corriente sanguínea es más lenta, así como en las zonas inflamadas, donde la adherencia inespecífica a las células endoteliales es más intensa; pero, además, el paso a través de los vasos se encuentra facilitado en las zonas donde las células endoteliales no forman una capa completa o los capilares están fenestrados.

Factores nutritivos. La localización también está relacionada con la disponibilidad de nutrientes esenciales para su desarrollo, como la presencia de erythritol en la placenta de los bóvidos que explica la localización de *Brucella abortus* o la existencia de urea o sus productos de descomposición que facilita el desarrollo y la infección del riñón por bacterias productoras de ureasa, en especial por *Proteus mirabilis*.

Deficiencias en los factores locales de defensa. En la zona medular del riñón existe una concentración hipertónica de sales, que representa un factor que disminuye la actividad de los fagocitos y del complemento, lo cual explicaría la mayor facilidad en la producción de infecciones en esta zona.

BIBLIOGRAFIA

Véase la del capítulo 17 (pág. 201).

Capítulo 16

Relación huésped-bacteria (IV)

Agustín Pumarola

FACTORES DETERMINANTES DE LA ACCION PATOGENA: CAPACIDAD LESIONAL. MODELOS DE INFECCION

CAPACIDAD LESIONAL

Las bacterias patógenas se caracterizan porque producen alteraciones celulares y tisulares responsables del cuadro patológico. Estas alteraciones pueden ser producidas por acción directa mediante la formación de sustancias tóxicas o por acción indirecta como consecuencia del proceso inflamatorio o por mecanismo inmunológico.

Acción tóxica

La acción nociva o lesional de las bacterias es debida en gran parte a factores tóxicos, en especial a la presencia o producción de toxinas. Las toxinas bacterianas son antígenos tóxicos de origen bacteriano; la asociación de propiedades tóxicas y antigénicas las separa de los venenos minerales, alcaloides y glucósidos.

Desde antiguo, atendiendo a su relación con la bacteria, las toxinas se han dividido en dos grandes grupos: exotoxinas y endotoxinas. Las exotoxinas serían sustancias solubles y difusibles que la bacteria sintetiza en el curso de su desarrollo y secreta al exterior, mientras que las endotoxinas estarían ligadas a determinadas estructuras y se consideran como compuestos tóxicos preformados, que se liberan por lisis de la bacteria. Estos grupos se corresponden a su vez con una serie de propiedades características.

Sin embargo, la circunstancia de que las endotoxinas se encuentren localizadas en estructuras de la superficie de las bacterias y de que algunas exotoxinas se liberen en gran parte por lisis de la bacteria (toxina tetánica) o estén asociadas con componentes estructurales (*S. dysenteriae, B. pertussis*) ha hecho que, aun manteniéndose esta clasificación por razones tradicionales, se considere más apropiado dividirlas según su composición química en toxinas proteicas y toxinas lipopolisacáridas.

Exotoxinas

Son toxinas de naturaleza proteica que se sintetizan en el citoplasma durante la fase de desarrollo logarítmico de la bacteria, se transportan a través de la membrana citoplásmica y se liberan al exterior ya de forma directa o probablemente mediante la formación de vesículas. La síntesis de la toxina puede ser codificada por el ADN cromosómico (toxina colérica, toxina de *Pseudomonas aeruginosa*) o ADN plasmídico (enterotoxinas TL y TS de *E. coli*, toxina tetánica) o estar asociada con estados de lisogenia (toxina diftérica, toxina eritrógena de *S. pyogenes*). Tienen un peso molecular variable, pero en general elevado y en su mayoría presentan una estructura en dos subunidades (A + B). La subunidad B, no tóxica, sería responsable de la fijación de la toxina a un receptor de la superficie de la célula, que explicaría la especificidad tisular y facilitaría la acción o penetración de la subunidad A responsable de la toxicidad, la cual tendría una acción enzimática sobre la membrana o en el interior de la célula. Presentan las siguientes características (tabla 16-1):

Toxicidad elevada. El poder tóxico es en general muy elevado y la DL50 oscila entre 10^{-3} mg para las toxinas estafilocócicas (toxina α, enterotoxinas) y 10^{-9} mg para las toxinas tetánica y botulínica, cuando se inoculan a los anima-

Tabla 16-1. Características diferenciales de las toxinas

	Exotoxinas	Endotoxinas
Naturaleza química	Proteínas	Lipopolisacáridos
Toxicidad	Elevada (10^{-3}-10^{-9})	Menos elevada (10^{-1}-10^{-3})
Acción	Específica	Inespecífica
Sensibilidad al calor	Termolábiles	Termoestables
Detoxicación por formol y conversión en toxoide	Sí	No
Poder inmunógeno	Elevado	Escaso
Neutralización por anticuerpos homólogos	Completa	Parcial
Sueros antitóxicos	Sí	No
Bacterias productoras	Grampositivas y gramnegativas	Gramnegativas

les de experimentación. La DL50 de la toxina botulínica del tipo A es de $4{,}5 \times 10^{-9}$ mg para el ratón y de 5×10^{-5} mg para el hombre (1 ng × kg). Se considera el veneno más potente conocido y es 15.000 veces más tóxica que la aconitina, el producto más potente; se ha calculado que con 210 g se podría destruir la población mundial.

Acción específica. Si se inocula un animal de experimentación, el cuadro clínico depende: *a)* de la difusión de la toxina en el organismo del animal y *b)* de su fijación específica en determinadas células o tejidos susceptibles. Esto hace que los fenómenos tóxicos no se manifiesten hasta después de cierto tiempo, período de incubación cuya duración es variable y está en relación inversa con la cantidad de toxina administrada. El cuadro clínico por lo general es específico para cada toxina y se caracteriza por la ausencia de fiebre. Muchas veces, la inoculación de la toxina reproduce la enfermedad natural; en estos casos, la toxina constituye el factor determinante de la acción patógena, pero en otras ocasiones sólo se producen un conjunto de lesiones celulares y tisulares características.

El mecanismo de acción y el cuadro clínico son específicos. Según su importancia en la patogenia de la enfermedad, las exotoxinas se han dividido en toxinas mayores, cuando por sí solas son responsables del cuadro clínico, y toxinas menores, cuando sólo coadyuvan a la acción patógena junto con otros factores (tabla 16-2). Según el sitio de acción, se dividen en toxinas que actúan sobre las membranas o sobre compuestos intracelulares y éstas a su vez según su especificidad y tropismos se pueden clasificar en toxinas de acción general (toxina diftérica, toxina α de *P. aeruginosa*, toxina de *B. anthracis*), neurotoxinas (toxinas tetánica y botulínica) y enterotoxinas, (toxinas de *V. cholerae*, TL y TS de *E. coli*, *C. perfringens*, *S. aureus*).

Toxinas de acción general. Se pueden citar:

1. *Toxina diftérica.* Es una proteína (PM 63.000) compuesta por dos subunidades. La subunidad B se fija en el receptor de la membrana de las células (probablemente una glicoproteína) y facilita el paso al citoplasma de la subunidad A de naturaleza enzimática, responsable de la acción tóxica.

La toxina cataliza la transferencia de ADP-ribosa al factor de elongación II (ribosilación), que interrumpe en el ribosoma el proceso de translocación de aminoácidos en el microciclo, inhibiendo, por tanto, la síntesis proteica.

Por actuar sobre un proceso básico y general, la toxina afecta diversos tipos de células, en especial las células musculares del corazón, esqueleto y diafragma, dando lugar a lesiones cardiacas y parálisis musculares que pueden producir la muerte por fallo cardiaco o parálisis respiratoria.

2. *Toxina α de Pseudomonas aeruginosa.* Presenta el mismo mecanismo de acción que la toxina diftérica, pero produce una acción necrótica y letal diferente debido probablemente a que se fija en receptores de otros tipos de células y a que en la acción patógena intervienen, además, otros factores.

3. *Toxina de Bacillus anthracis.* Se demostró primero en el plasma de los animales enfermos en período agónico y más tarde se consiguió purificar aislándose tres proteínas que actúan sinergicamente: el factor edematógeno (EF) y el factor letal (FL), que precisan una tercera proteína, el antígeno protector (PA) para su activación. El factor edematógeno es de naturaleza enzimática y se ha identificado con una adenilciclasa bacteriana, mientras que el factor letal no tiene actividad enzimática. El antígeno protector facilitaría la penetración del factor edematógeno, produciendo un aumento del AMP cíclico, que se traduciría por la producción de un edema localizado y también del factor letal que sería responsable del cuadro tóxico, que por lo general aboca a la muerte.

Neurotoxinas Las más importantes son las toxinas tetánica y botulínica. También se puede incluir la enterotoxina estafilocócica, que en realidad es una neurotoxina.

1. *Toxina tetánica.* Proteína (PM 160.000) compuesta por dos subunidades y codificada por un plásmido de gran tamaño (90 Mdaltons), que presenta una acción selectiva sobre el sistema nervioso. A partir de la sinapsis neuromuscular difunde por neuroprobasia centrípeta a lo largo de los axones hasta llegar al SNC, donde la subunidad B se fija en los receptores (gangliósido GT1) de la célula nerviosa, facilitando la acción tóxica de la subunidad A. Produce una acción central muy parecida a la estricnina, pues bloquea el mecanismo de inhibición de la sinapsis dando lugar a un acúmulo de neurotransmisores (acetilcolina), que aumenta la excitabilidad refleja con la producción de espasmos y convulsiones. Su mecanismo molecular de acción no se conoce.

2. *Toxina botulínica.* Neurotoxina proteica (PM 900.000 y fragmentos activos de 150.000) con estructura en dos subunidades. La subunidad B se fija en el gangliósido GD1b del tejido nervioso, facilitando la acción tóxica de la subunidad A sobre la placa motora, donde bloquea la producción o liberación de acetilcolina, interrumpiendo la conducción en los nervios motores, con producción de alteraciones neurotóxicas y parálisis fláccidas, que afectan inicialmente los pares craneales. Por lo general, la intoxicación se produce por ingesta de toxina preformada con los alimentos, pero también puede ser debida a la multiplicación de *C. botulinum* en el intestino del niño con producción de pequeñas cantidades de toxina (botulismo infantil).

Enterotoxinas. Son exotoxinas de acción específica sobre las células intestinales, que dan lugar a la producción de diarrea. Se han clasificado en enterotoxinas citotónicas cuando sólo producen alteraciones funcionales en el metabolismo del enterocito y enterotoxinas citotóxicas cuando producen alteraciones anatómicas o necrosis. Entre las primeras se encuentran las enterotoxinas de *Vibrio cholerae* y de *Escherichia coli* (TL y TS) y entre las segundas, la toxina de *Shigella* y la de los *E. coli* enteroinvasivos como más importantes.

1. *Toxina colérica* (PM 84.000). Es una toxina termolábil y antigénica codificada por genes cromosómicos, que presenta la estructura general en dos subunidades. La subunidad B consta a su vez de 5 fracciones idénticas (PM 56.000), que se fijan a un receptor, gangliósido GM1, de la membrana del enterocito, facilitando la penetración de la subunidad A (PM 28.000), de naturaleza enzimática, que está constituida por dos fracciones A1 y A2 unidas por puentes disulfuro. Presenta actividad de ADP-ribosiltransferasa, catalizando la transferencia de ADP-ribosa a la proteína reguladora N3, que produce a activación de un fermento del receptor, la

Tabla 16-2. Caracteres, mecanismos de acción y alteraciones producidas por las principales exotoxinas

Bacteria	Enfermedad	Estructura	Regulación genética	Receptor	Mecanismo de acción	Alteraciones
C. difteriae	Difteria	A + B	Profago β	Glicoproteína	Inhibición de la síntesis proteica, ribosilación de factor EF II	Alteraciones cardiaca, paralisis muscular y nerviosa
P. aeruginosa (toxina α)	Infección en quemados e imnunodeprimidos. Sepsis	A + B	Cromosoma	Desconocido	Igual que el de la toxina diftérica	Acción letal en animales, alteración hepática
B. anthracis	Carbunco	Proteínas EF, LF y PA	Desconocida	Desconocido	FE no tiene actividad enzimática. EF es una adenilciclasa bacteriana. Aumento de AMPc, aumento de la permeabilidad, edema local	Edema, hemorragias, trombos, fallo circulatorio
C. tetani	Tétanos	A + B	Plásmido	Ganglíosido GT1	Bloqueo de la inhibición sináptica en SNC	Parálisis, espasmos musculares
C. botulinum	Botulismo	A + B	Fago	Ganglíosido GD1b	Bloqueo de la liberación de acetilcolina en SN periférico	Parálisis fláccidas de los pares craneales, alteraciones neurotóxicas
V. cholerae	Cólera	2A + 5B	Cromosoma	Ganglíosido GM1	Ribosilación proteica N3. Activación de adenilciclasa. Aumento AMPc	Diarrea secretora con pérdida de agua y ele ctrólitos
E. coli	Gastroenteritis (enterotoxina TL)	2A + 5B	Plásmido Ent.	Ganglíosido GM1	Igual que el de la toxina colérica	Igual que las de la toxina colérica
	Diarrea de viajeros (enterotoxina TS)			Diferente, desconocido	Activación de guanilciclasa. Aumento de GMPc	Diarrea secretora
B. cereus	Intoxicación alimentaria	Proteína termolábil	Desconocida	Desconocido	Vía de adenilciclasa	Gastroenteritis
			Desconocida	Desconocido	Desconocido	Vómitos (platos de arroz)
C. perfringens	Intoxicación alimentaria	Proteína esporal	Desconocida	Desconocido	Enterotoxina de acción desconocida	Gastroenteritis
		Proteína esporal				Enteritis necrotizante
S. dysenteriae	Disentería bacilar	A + B	Desconocida	Desconocido	Inhibición de la síntesis proteica, pérdida de líquidos, alteraciones del endotelio vascular	Diarrea, necrosis celular y úlceras
C. difficile	Colitis pseudomembranosa	Desconocida	Desconocida	Desconocido	Desconocido	Diarrea y acción letal
B. pertussis	Tos ferina	A + 5B	Desconocida	Desconocido	Ribosilación de la proteína reguladora N1	Alteraciones de la función ciliar y del epitelio bronquial
C. perfringens (toxina alfa)	Gangrena gaseosa	Desconocida	Desconocida	Desconocido	Fosfolipasa C	Hemólisis, necrosis celular. Toxemia
S. aureus	Infecciones piógenas (toxina α)	2 fracciones	Desconocida	Ganglíosido	Activación de fosfolipasa A2. Bloqueo proteinquinasa	Hemólisis, necrosis
	Necrólisis epidérmica (enfermedad de Liell)	Serotipo i	Plásmidos	Desconocido	Inhibición de los factores de adherencia celular en el estrato granuloso	Exfoliación cutánea. Nauseas, vómitos y diarrea
		Serotipo ii	Cromosoma			
	Intoxicación alimentaria (enterotoxina)	–	Cromosoma	Vísceras abdominales	Acción sobre el centro del vómito	Náuseas, vómitos y diarreas
S. pyogenes	Infecciones piógenas (estreptolisinas O y S)	Desconocida	Desconocida	Desconocido	Fosfolipasas (estreptolisinas O y S)	Hemólisis, citólisis y necrosis
	Escarlatina	Desconocida	Fago	Desconocido	Toxina eritrogénica de vaso	Exantema maculopapuloso

adenilciclasa, que a su vez incrementa la transformación del ATP en AMP cíclico.

Se produce una diarrea secretora constituida por un líquido isotónico con pérdida de agua, cloruros y sodio, a través del epitelio intacto, a la luz intestinal, que ocasiona deshidratación y hemoconcentración que puede llegar a la acidosis, colapso y muerte del enfermo en 18-48 horas.

2. *Enterotoxinas de E. coli.* Los *E. coli enterotoxígenos* pueden producir dos tipos fundamentales de enterotoxinas citotónicas, TL y TS, y recientemente se han demostrado en algunos serotipos (026, 0157) enterotoxinas citotóxicas (verotoxina).

Enterotoxina termolábil TL (PM 86.000). Es una toxina semejante a la colérica en cuanto a composición, estructura, propiedades inmunológicas y mecanismo de acción, que se diferencia por estar codificada por plásmidos (plásmidos Ent).

Está producida por los *E. coli* enterotoxígenos y da lugar, después de un período de incubación de 30 minutos, a una diarrea líquida de 8-12 horas de duración. Estas cepas para producir la enfermedad deben presentar los factores de colonización (CFAI, CFAII, E8775 o fimbrias MR) que facilitan la adherencia a las células epiteliales del intestino delgado y la acción de la toxina. Se considera que otras bacterias gramnegativas *(Salmonella, Klebsiella, Pseudomonas)* producen enterotoxinas semejantes.

3. *Enterotoxinas estafilocócicas. Staphylococcus aureus,* cuando se desarrolla en medios adecuados, puede producir diversas enterotoxinas (A, B, C_1, C_2, D y E), codificadas por genes cromosómicos y reguladas por genes plasmídicos, que pueden ser la causa de intoxicaciones por la ingesta de toxina preformada con los alimentos que da lugar a la producción de vómitos y diarreas. No puede considerarse como una clásica enterotoxina, pues no parece que la toxina actúe directamente sobre las células intestinales. La acción emética es de origen central, pues la toxina estimula el receptor que se encuentra en las vísceras abdominales y por vía ascendente (sistema nervioso vegetativo) actúa directamente sobre el centro del vómito, dando lugar a la producción de náuseas y vómitos en las primeras horas de la ingestión de la toxina. Produce asimismo un aumento de la secreción de líquido por el intestino delgado (diarrea), cuyo mecanismo de acción no se conoce.

Enterotoxina termoestable TS. Las cepas de *E. coli* enterotoxígenos también pueden sintetizar, además o exclusivamente, una toxina termoestable de menor peso molecular (1.900) y de escasa capacidad inmunógena, que se fija a un receptor diferente de las células del yeyuno e íleon y actúa por un mecanismo distinto, activando el fermento guanilciclasa que produce un aumento de la producción de GMPc (guanosín-monofosfato cíclico) y la aparición de una diarrea líquida inmediata y de corta duración (2-3 horas). Se supone que *Yersinia enterocolitica, Vibrio parahemoliticus* y *Campylobacter fetus* también pueden producir enterotoxinas semejantes.

Verotoxina. Enterotoxina citotóxica semejante a la toxina de *Shigella dysenteriae 1* producida por el serotipo 0157 de *E. coli* y quizás el 026, que tendría acción sobre las células endoteliales de los vasos sanguíneos intestinales dando lugar a diarreas hemorrágicas.

Enterotoxina de Bacillus cereus. En la intoxicación alimentaria por *B. cereus* se han descrito dos síndromes: la gastroenteritis que se presenta a las 2-16 horas después de la ingesta de los alimentos y un cuadro de náuseas y vómitos (sin diarreas) que aparece más precozmente (1-5 horas) asociado por lo general al consumo de platos de arroz. El primero estaría producido por una toxina proteica termolábil (PM 50.000), que actuaría al igual que la colérica por la vía de la adenilciclasa, mientras que el cuadro de vómitos sería debido probablemente a una toxina asociada con las esporas, de mecanismo de acción no conocido.

Enterotoxina de Clostridium perfringens. El consumo de alimentos contaminados por *C. perfringens* tipo A puede producir cuadros de toxiinfección alimentaria (gastroenteritis) como consecuencia de su multiplicación en el intestino y producción de una toxina en el acto de la esporulación. La toxina es una proteína del esporo termolábil (PM 34.000), que produce diarrea por un mecanismo de acción desconocido, distinto del de la adenilciclasa. Recientemente se ha aislado una toxina semejante de *C. perfringens* tipo C, agente causal de la enteritis necrotizante.

Enterotoxina de Shigella S. dysenteriae tipo 1 elabora una enterotoxina citotóxica termolábil de naturaleza proteica, compuesta por 2 subunidades. La subunidad B facilitaría la adherencia y la subunidad A, de acción enzimática, actuaría sobre los ribosomas 60S, inhibiendo la síntesis proteica. Produce necrosis celular y formación de úlceras, estando la gravedad del cuadro en relación con la cantidad de toxina producida. No se conoce el mecanismo de producción de la diarrea. Enterotoxinas citotóxicas semejantes se suponen producidas por *E. coli* enteroinvasivos, *E. coli* enterohemorrágicos y algunas cepas (026) de *E. coli* enteropatógenos.

Enterotoxina de Clostridium difficile. C. difficile es la causa de cuadros de colitis pseudomembranosa que se presentan en pacientes sometidos a tratamiento antibiótico generalmente con motivo de intervenciones abdominales. En estos casos se producen condiciones favorables para el desarrollo de *C. difficile* en el intestino y la producción de una toxina citotóxica, que es la causa de la diarrea y muerte en pacientes debilitados. No se conoce su naturaleza ni su mecanismo de acción, pero son semejantes a los de la toxina de *C. sordelli.*

Toxinas de Bordetella pertussis. De *B. pertussis* se han aislado diversas sustancias tóxicas. La más importante es la *toxina pertussis* o *pertusígeno,* también denominado factor promotor de la linfocitosis. Presenta una estructura semejante a la toxina diftérica, con 5 fracciones en la subunidad B, pero se fija a un receptor celular distinto y no conocido de las células del epitelio respiratorio, donde cataliza la ribosilación de la proteína N1 reguladora de la adenilciclasa celular.

En este caso no se observan variaciones en los niveles de AMPc debido a una falta de respuesta a las hormonas o neurotransmisores que lo disminuyen.

Se ha aislado otra toxina de acción enzimática, constituida por una *adenilciclasa bacteriana extracitoplásmica,* muy parecida al factor edematógeno (EF) de *Bacillus anthracis,* que produciría un aumento del AMP cíclico en diversos tipos de células, inhibiendo la acción bactericida de los leucocitos polinucleares neutrófilos, monocitos y células *killer* naturales y, en consecuencia, interfiriendo en las defensas del huésped a nivel de la mucosa.

Exfoliatina de Staphylococcus aureus. Proteína (25.000-30.000 PM) sensible a los ácidos (pH 4). Se conoce el serotipo i, estable a 60 °C y codificado por genes cromosómicos, y el serotipo ii, termolábil y codificado por plásmidos. Produ-

ce la separación de la epidermis a nivel del estrato granuloso por un mecanismo extracelular no citotóxico.

Toxinas que alteran la membrana. Además de las toxinas que actúan sobre componentes situados en el citoplasma, existen otras que para ejercer su acción tóxica no necesitan penetrar en la célula. En su mayoría son fosfolipasas, exoenzimas que presentan la propiedad de descomponer los fosfolípidos de la membrana de diversos tipos de células. Entre ellas, tenemos como más importantes la toxina α de *C. perfringens* y un grupo de toxinas menores que presentan la propiedad de destruir los hematíes (hemolisinas), leucocitos (leucocidinas) y otras células (citolisinas) y cuyo papel generalmente es secundario en el determinismo de la enfermedad.

1. *Toxina α de Clostridium perfringens.* Es una enzima, fosfolipasa C, que actúa sobre los lípidos de las membranas celulares, produciendo diversos efectos biológicos (hemólisis, necrosis celular, toxemia), que conducen a alteraciones metabólicas progresivas, cuya suma conforma el cuadro de la gangrena gaseosa.

2. *Toxinas hemolíticas.* Por su acción lítica sobre los hematíes de diversas especies animales se les dio el nombre de toxinas hemolíticas o hemolisinas. Más tarde, al demostrarse que también afectaban otras células como consecuencia de su acción general sobre las membranas, se designaron como toxinas citotóxicas o citolíticas pero en la actualidad se prefiere la denominación genérica de toxinas.

En su mayoría son fosfolipasas que actúan sobre los fosfolípidos de la membrana de diversos tipos de células (hematíes, leucocitos, macrófagos, células tisulares), responsables de fenómenos hemolíticos, necróticos y antifagocitarios que facilitarían la infección y el proceso inflamatorio. De este tipo serían las hemolisinas oxigenolábiles de *Streptococcus* del grupo A (estreptolisina 0), *Streptococcus pneumoniae* (neumolisina), *C. tetani* (tetanolisina) y otros clostridios.

La toxina α de *S. aureus* (PM 36.000) presenta una acción semejante (hemolítica, dermonecrótica y letal). Se han podido separar dos fragmentos: una fracción tóxica o letal (cadena pesada de PM 17.000) y una fracción hemolítica (cadena ligera de PM 14.000). Sin embargo, su mecanismo de acción es diferente, ya que no actúan directamente, sino activando diversos fermentos de la membrana. La fracción hemolítica se fija en receptores gangliósidos del hematíe activando la fosfolipasa A2, que descompone los lípidos de la membrana, y la fracción tóxica inhibe la acción de una proteinquinasa con aumento de la permeabilidad a los iones Ca^{++}.

3. *Leucocidinas.* Cierto número de especies bacterianas pueden producir sustancias que destruyen los fagocitos. En general, las toxinas hemolíticas o citotóxicas presentan una acción antifagocitaria y pueden considerarse como leucocidinas. La leucocidina de *Streptococcus* del grupo A se identifica con la estreptolisina S y la de *S. aureus*, con las toxinas α y δ. Quizás una de las pocas leucocidinas no hemolíticas sea el factor de Panton y Valentine de *S. aureus*, que está compuesto de dos factores F y S, los cuales actúan sinérgicamente y presentan una acción exclusiva sobre la membrana de los fagocitos.

Labilidad. Las exotoxinas son muy lábiles. Por acción del calor se inactivan con rapidez; el tratamiento por formol, en determinadas condiciones de temperatura, pH y tiempo, hace perder su toxicidad, conserva su poder inmunógeno y las transforma en *anatoxinas* o *toxoides* de gran importancia en la preparación de vacunas antitóxicas. La pérdida de la toxicidad parece debida al bloqueo de los grupos amino libres por el aldehído fórmico.

Poder inmunógeno. Presentan un poder antigénico elevado, pues la administración de toxoides por vía parenteral induce la formación de anticuerpos que neutralizan la acción de la toxina y se combinan según la ley de las proporciones múltiples. Son anticuerpos antitóxicos o antitoxinas, que constituyen la base para la preparación de sueros antitóxicos y aun de inmunoglobulinas específicas de gran interés para la prevención y tratamiento de estos cuadros.

Bacterias productoras de exotoxinas. Se incluyen por lo general dentro de las bacterias grampositivas esporuladas (*C. tetani, C. botulinum*, clostridios de la gangrena gaseosa) o no esporuladas (*Corynebacterium diphtheriae, S. aureus, S. pyogenes, B. cereus, B. anthracis*) y también en algunas especies de bacilos gramnegativos (*V. cholerae, E. coli, V. parahaemolyticus, B. pertussis* y *S. dysenteriae*).

Endotoxinas

Son toxinas localizadas en estructuras superficiales de la bacteria, que se pueden liberar durante la fase de crecimiento, pero sobre todo por lisis de la célula bacteriana.

Composición química. La endotoxina forma parte del lipopolisacárido (LPS), que constituye la membrana externa de la pared celular de las bacterias gramnegativas y a su vez está asociado con el antígeno O. En el LPS se han mostrado tres fracciones (fig. 16-1):

1. Una fracción externa o cadenas laterales del lipopolisacárido constituida por unidades de oligosacáridos, cuyo número, composición y secuencia diferirían según la especie bacteriana y serían responsables de la especificidad del antígeno O.
2. Una fracción central, o núcleo del polisacárido, formada por oligosacáridos y KDO (ácido ketodesoxioctónico) que sería común en las bacterias gramnegativas, lo que explicaría las reacciones cruzadas que se presentan entre las distintas especies.
3. Una fracción interna o lípido A, de composición semejante en las enterobacterias, que se identificaría con la endotoxina y sería responsable de la toxicidad, así como de la similitud de las manifestaciones clínicas observadas con las endotoxinas de las diferentes especies.

Propiedades. Las endotoxinas presentan las siguientes características (tabla 16-1):

Toxicidad y acción inespecífica. Su toxicidad es menor que la de las exotoxinas. La DL50 para los animales de experimentación es mucho mayor (10^{-1}-10^{-3} mg/kg de peso), pero varía en las distintas especies bacterianas y aún existen algunos lipopolisacáridos que son muy poco tóxicos (*Brucella*).

En los animales, la administración de endotoxinas produce una gran variedad de manifestaciones biológicas, que son semejantes para todas las bacterias gramnegativas

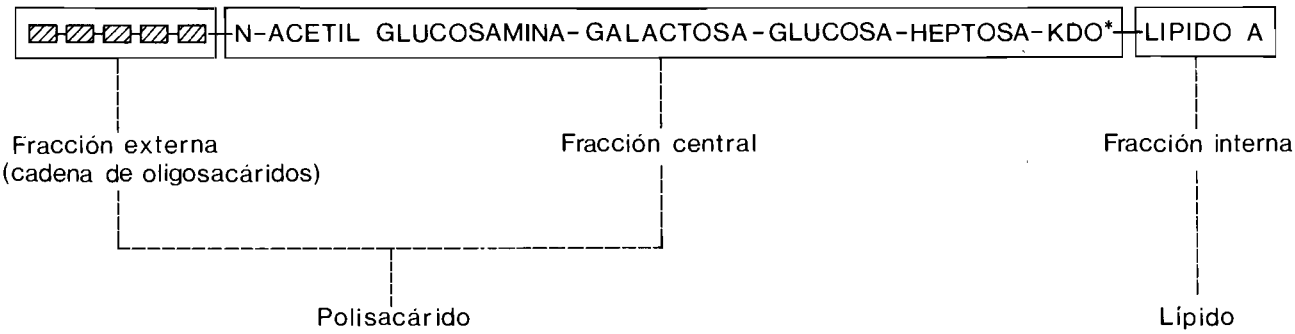


Fig. 16-1. Composición del lipopolisacárido de la pared celular de las bacterias gramnegativas. *KDO, ácido ketodesoxioctónico.

(inespecificidad), pero difieren según la dosis y especie animal. Se ha comprobado que los ratones y conejos son los animales más sensibles, y las manifestaciones más importantes son las siguientes:

1. Fiebre. La administración de pequeñas cantidades de endotoxina por vía intravenosa o intramuscular produce, después de un período de latencia (15 min), fiebre que alcanza el máximo a las 3 horas (acción pirógena). La endotoxina es captada por los fagocitos (polinucleares, monocitos), que liberarían un factor pirógeno (pirógeno endógeno), de acción sobre el centro termorregulador del hipotálamo. La producción de fiebre es una prueba muy sensible, que se emplea para la demostración de endotoxina (pirógenos) en los líquidos y productos que se administran por vía parenteral. El método se basa en determinar la mínima cantidad del producto, que, administrado por vía intravenosa al conejo, es capaz de aumentar su temperatura en 1 °C a las 3 horas.

2. *Leucopenia, leucocitosis y trombopenia.* La endotoxina aumenta la adherencia de los leucocitos al endotelio capilar y produce una leucopenia inicial, seguida de leucocitosis compensadora. También se adsorbe en las plaquetas y da lugar a fenómenos de agregación y lisis plaquetaria, con liberación de sustancias vasoactivas (quininas), que junto con la desgranulación de los leucocitos son las responsables de las alteraciones vasculares.

3. *Alteraciones vasculares, shock y acción letal.* La administración por vía intravenosa de dosis mayores produce, además de fiebre, leucopenia y trombopenia, alteraciones vasculares e hipotensión, y si la dosis es muy elevada, se puede presentar un cuadro grave con diarrea sanguinolenta, postración y colapso, que generalmente aboca a la muerte por shock séptico y coagulación intravascular diseminada. En estos casos se produce vasoconstricción periférica con formación de microembolias, que ocasionan un déficit de irrigación tisular, anoxia y necrosis.

El *hombre* presenta la máxima sensibilidad a la endotoxina, que aumenta con la edad. Normalmente se producen pequeñas cantidades de endotoxina a partir de la flora gramnegativa del tubo digestivo, que por vía portal llegan al hígado donde son captadas por las células del SRE que las metabolizan. Pero en las bacteriemias y sepsis por bacterias gramnegativas se produce el paso directo de endotoxina a la circulación general, donde puede manifestar su acción tóxica coadyuvando al cuadro patológico con diversas manifestaciones (fiebre, leucopenia, alteraciones vasculares), que pueden llegar al shock séptico y a la coagulación intravascular diseminada, según la cantidad de endotoxina liberada y su concentración en sangre periférica.

La *patogenia* de estos fenómenos no se conoce con certeza, pero diversas investigaciones han sugerido que puede ser el resultado de la activación e interacción de diversos sistemas de proteínas plasmáticas, en especial de los sistemas del complemento, coagulación, fibrinólisis y quininas (fig. 16-2). Parece que la endotoxina es capaz de activar:

1. El sistema del complemento por la vía alternativa, liberando fragmentos de C3a y C5a, que presentarían una doble acción, quimiotáctica o de atracción de los leucocitos y anafilotóxica con desgranulación de los polinucleares y células cebadas y liberación de productos lisosómicos (proteínas catiónicas, sustancia mucoide ácida) y sustancias vasoactivas.

2. La agregación y lisis plaquetaria, con liberación de sustancias vasoactivas (histamina, serotonina, quininas), que serían responsables del aumento de la permeabilidad vascular, vasoconstricción periférica y producción del shock.

3. El factor de Hageman (factor XII de la coagulación), que a su vez activaría:

a) El sistema intrínseco de la coagulación (protrombina → trombina), que transformaría el fibrinógeno y monómeros de fibrina en fibrina.

b) El sistema de la fibrinólisis, descomponiendo la fibrina y formando complejos entre los productos de degradación de la fibrina y los monómeros de fibrina, que en presencia de proteínas catiónicas y la sustancia mucoide ácida llegarían a la formación de un coágulo fibrinoso insoluble, que junto con la agregación plaquetaria podría dar lugar a los fenómenos de coagulación intravascular diseminada.

c) La precalicreína, produciendo pequeñas cantidades de quininas (bradiquinina).

Por otra parte, la formación de sustancias vasoactivas en cantidad podría ser producida no sólo por acción directa de la endotoxina, sino a través de fenómenos de *hipersensibilidad inespecífica*, del tipo del fenómeno de Schwartzmann generalizado. La administración por vía intravenosa al conejo de una dosis no tóxica de endotoxina (dosis preparadora) después de una fase de leucopenia inicial da lugar a leucocitosis, de manera que la administración de una segunda dosis (dosis desencadenante) produciría, por activación del sistema del complemento, una intensa desgranulación con

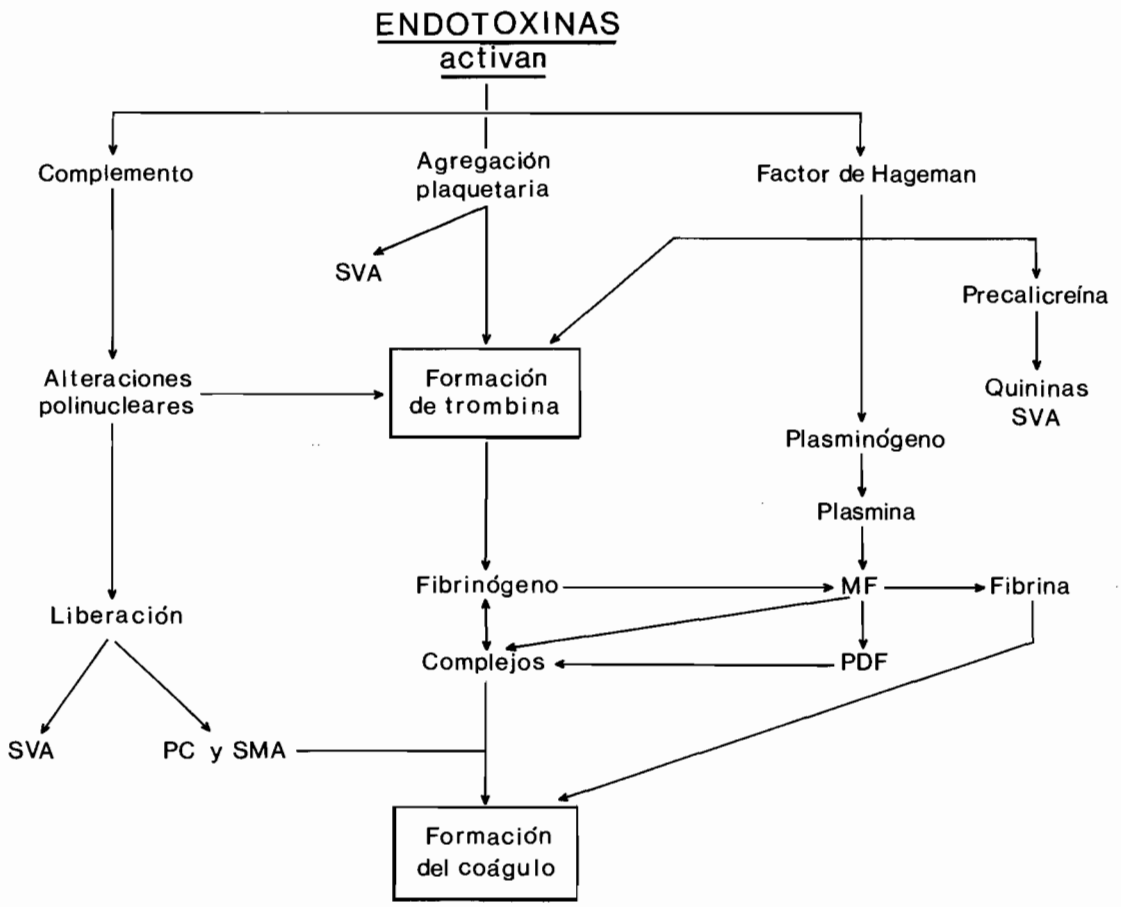


Fig. 16-2. Probables mecanismos de acción de las endotoxinas. MF, monómeros de fibrina. PC, proteínas catiónicas. SMA, sustancia mucoide ácida. SVA, sustancias vasoactivas. PDF, productos de degradación de la fibrina.

liberación masiva de sustancias vasoactivas (quininas), que daría lugar al fenómeno generalizado de Schwartzmann, con muerte del animal por coagulación intravascular diseminada y necrosis bilateral del córtex renal. Se considera que la exposición repetida de pequeñas dosis de endotoxina podría ser la responsable de estas alteraciones por la vía de la hipersensibilidad inespecífica.

Estudios clínicos han señalado que en las bacteriemias por bacilos gramnegativos se ha podido demostrar la activación del factor de Hageman, la producción y liberación de quininas y la disminución de C3, cuya intensidad podría estar en relación con la gravedad del cuadro. Sin embargo, como, por otra parte, también se ha podido detectar la presencia de endotoxina en la circulación sin la aparición de manifestaciones clínicas, en el momento actual no se conoce con seguridad si la endotoxina es responsable de las manifestaciones que se presentan en las infecciones por bacterias gramnegativas.

Estabilidad. Las endotoxinas son relativamente estables. Resisten la acción de la temperatura a 60 °C durante varias horas sin pérdida de la toxicidad. Por acción del formol no se detoxican y, por tanto, no se transforman en toxoides.

Poder antigénico. Las endotoxinas son débilmente antigénicas. La inoculación del lipopolisacárido induce la formación de anticuerpos frente al polisacárido, que por lo general no neutralizan la acción tóxica y, por tanto, no se comportan como antitoxinas, por lo cual no se pueden preparar sueros antitóxicos.

Sin embargo, se ha observado que, aunque los anticuerpos frente a la fracción específica del polisacárido, incluso a título elevado, no protegen a los enfermos con bacteriemia o sepsis del shock séptico, los anticuerpos frente a la fracción central o núcleo del polisacárido, que es común, presentan cierta acción protectora, lo que ha permitido abordar la preparación de vacunas grupoespecíficas que fueran eficaces en las bacteriemias por bacilos gramnegativos.

Valoración. La determinación de la endotoxina en el plasma y líquidos orgánicos se efectúa por pruebas biológicas basadas en:

1. La acción letal de la endotoxina sobre el huevo embrionado de gallina de 8-12 días de incubación o sobre el ratón blanco tratado con actinomicina D.
2. La prueba del *Limulus.* Los amebocitos del cangrejo *Limulus poliphemus* contienen una proteína que se coagula por la acción de la endotoxina, de manera que mínimas cantidades producen la gelificación del lisado de amebocitos.

Bacterias productoras. Las bacterias productoras de endotoxina son muy numerosas y se encuentran principalmente dentro de las bacterias gramnegativas de los géneros *Escherichia, Klebsiella, Salmonella* y *Shigella.*

Mecanismo inflamatorio

Las bacterias patógenas, una vez que han colonizado o penetrado en el organismo, inician la infección por acción directa del microorganismo o de sus toxinas, produciendo la destrucción de células con liberación de sustancias que ponen en marcha el proceso inflamatorio. Los fenómenos de vasodilatación con aumento de la permeabilidad permiten la llegada de fagocitos al foco inflamatorio, y cuando por acción microbiana se produce la destrucción de los fagocitos, se liberan enzimas lisosómicas que incrementan el daño y amplían la reacción inflamatoria. Pero, además, la fagocitosis de bacterias con estructuras de difícil digestión (peptidoglicanos) puede conducir a un proceso subagudo o crónico, con formación de granulomas y persistencia de la infección.

El proceso inflamatorio local o general es el responsable de cierto número de alteraciones celulares, vasculares y tisulares, así como de muchos de los síntomas y signos que se presentan y matizan el cuadro patológico.

Mecanismo inmunológico

Las alteraciones patológicas también pueden ser producidas por fenómenos de hipersensibilidad específica, de tipo humoral o celular, es decir, por mecanismos inmunológicos. Hay que tener en cuenta que la simple respuesta inmune ya representa la producción de una serie de reacciones inflamatorias de tipo humoral (vasodilatación, edema, infarto ganglionar) o celular (infiltración), que, si bien en condiciones normales apenas influyen en el cuadro patológico, si su intensidad es elevada, como ocurre en los fenómenos de hipersensibilidad, pueden ser las responsables del proceso e incluso de cuadros de extrema gravedad que pueden abocar a la muerte.

Según el mecanismo inmunológico productor de la lesión tisular, se han distinguido cuatro tipos de reacciones inmunopatológicas o de hipersensibilidad, que se estudian con detalle en el capítulo 29.

Tipo 1: *reacción anafiláctica*

Es debida a anticuerpos citotrópicos (IgE), que se fijan en la superficie de las células cebadas. La reacción Ag-Ac en la superficie de estas células produce su desgranulación con la liberación de sustancias vasoactivas (histamina, serotonina, bradiquininas) responsables de los fenómenos patológicos (shock anafiláctico, broncoespasmo, inflamación local). En las enfermedades infecciosas, este mecanismo se supone que interviene en la producción de algunos exantemas.

Tipo 2: *reacción citotóxica*

Es producida por anticuerpos circulantes normales (IgG, IgM), que se combinan con antígenos superficiales de células del propio organismo o con antígenos o haptenos adsorbidos en su membrana, que por lo general producen la lisis de la célula o un estímulo funcional.

Cuando los virus infectan células, los anticuerpos antivíricos pueden producir la destrucción de la célula infectada, y se ha sugerido que la necrosis hepática en el curso de la hepatitis B podría ser debida a fenómenos de este tipo.

La fiebre reumática y la glomerulonefritis que aparecen como consecuencia de infecciones repetidas por estreptococos del grupo A se consideran producidas por este mecanismo, pues se ha demostrado la existencia de relaciones antigénicas entre antígenos del estreptococo y antígenos del miocardio, tejido valvular y membrana basal del glomérulo, respectivamente, aun cuando es probable que intervengan, además, reacciones de tipo 3 y 4.

Tipo 3: *reacción por complejos inmunes*

Es debida a la combinación de anticuerpos normales (IgG, IgM) con el antígeno correspondiente, en la zona de un ligero exceso de antígeno, lo cual da lugar a la formación de complejos inmunes persistentes que presentan una acción irritativa sobre los vasos y tejidos. Se pueden producir reacciones locales (tipo fenómeno de Arthus), como los infiltrados eosinófilos por *Aspergillus fumigatus*, o generalizadas, como en la enfermedad del suero, que son la causa de la mayoría de glomerulonefritis que se producen en el curso de enfermedades infecciosas o parasitarias.

Tipo 4: *reacción mediada por células*

Es la hipersensibilidad de tipo celular o retardada, debida a linfocitos T sensibilizados, que presentan la propiedad de reconocer y combinarse con el antígeno correspondiente. En estos casos se produce la transformación blástica del linfocito y la liberación de una serie de mediadores (factor de transferencia y linfoquinas) responsables de la acción patológica, caracterizada por reacciones inflamatorias con predominio de los fenómenos de infiltración celular (linfocitos, macrófagos) y formación de granulomas. Por este mecanismo se considera que se producen muchas de las alteraciones en las enfermedades crónicas, que han sido especialmente estudiadas en la tuberculosis, pero que también intervienen en la lepra, sífilis y linfogranuloma venéreo.

MODELOS DE INFECCION

Según la importancia relativa de los diferentes factores determinantes de la acción patógena, en relación con la capacidad de invasión (penetración, multiplicación e invasión) y lesional (toxinas y fenómenos de hipersensibilidad), se puede considerar la existencia de diferentes modelos de infección y diversas variantes en la acción patógena (tabla 16-3).

Infecciones predominantemente tóxicas

Están producidas por bacterias sin capacidad de penetración (o sólo pasiva) ni de invasión, pero que secretan exotoxinas solubles y difusibles, las cuales son la causa de la enfermedad. Son las infecciones hipertóxicas, y en estos casos la toxina puede formarse:

Fuera del organismo

Se produce como consecuencia de la multiplicación de bacterias toxigénicas en los alimentos (*C. botulinum*,

Tabla 16-3. Factores determinantes de la patogenicidad. Modelos de infección

Bacteria	Enfermedad	Penetración	Multiplicación	Invasión	Toxinas	M. inmunológico	Modelo de infección
							1. *Predominantemente tóxica*
C. botulinum	Botulismo	–	–	–	+++(exo)	–	*a)* Intoxicación por consumo de alimentos con exotoxina. Acción a distancia
C. diphteriae	Difteria	–	+	–	++(exo)	–	*b)* Toxiinfección. Infección local con exotoxinas de acción general a distancia
V. cholerae	Cólera	–	+	–	++(exo)	–	*c)* Toxiinfección. Infección local con exotoxinas de acción local
							2. *Predominantemente invasiva*
S. pneumoniae	Bacteriemia Neumonía	+	+	+	–	–	Infección invasiva con localización a distancia
							3. *Por acción combinada*
Streptococcus del grupo A	Angina	–	+	–	+(exo)	+	*a)* Infeccion local de la faringe con exotoxinas y posibles complicaciones de tipo inmunológico (reinfecciones)
S. aureus	Furúnculo	+	+	–	+(exo)	–	*b)* Infección local de la piel y tejido celular subcutáneo con producción de exotoxinas
Shigella	Disentería	+	+	+	± (¿exo?)	–	*c)* Infección invasiva por contigüidad, con posible producción de enterotoxinas citotóxicas
S. typhi	Fiebre tifoidea	+	+	+	+(endo)	±	*d)* Infección invasiva por vía sanguínea y producción de endotoxinas
M. tuberculosis	Tuberculosis	+	+	+	–	++	*c)* Infección invasiva por vía linfática y mecanismo inmunológico

S. aureus enterotoxígenos), y la enfermedad se origina por consumo de alimentos que contienen toxina (intoxicación alimentaria). En estos casos, la toxina constituye el único factor determinante de la acción patógena.

En el propio organismo

Las bacterias toxigénicas, cuando se desarrollan en el organismo, secretan toxinas que pueden producir:

Acción local. Se observa sobre los tejidos vecinos, como las enterotoxinas de *V. cholerae, E. coli, V. parahaemolyticus,* que actúan sobre la mucosa intestinal produciendo cuadros de diarrea, o la toxina de *Bordetella pertussis* sobre el aparato respiratorio.

Acción a distancia. Sucede así en las exotoxinas tetánica, diftérica y escarlatinosa (toxina eritrogénica). La multiplicación de estas bacterias en un foco de infección (heridas, mucosa faríngea) da lugar a la producción de toxinas solubles que por vía sanguínea producen su acción en tejidos u órganos alejados e incluso pueden tener una acción más general. En este grupo también se puede incluir la toxina α de *P. aeruginosa.*

Acción generalizada. Se produce cuando las bacterias pasan a la sangre en gran número, produciendo toxinas que actúan sobre el tejido vascular, tal como ocurre con *B. anthracis,* que son las responsables de la gravedad del carbunco.

En estos tres casos, aunque la producción de exotoxinas constituye el factor más importante, intervienen, además, otros factores, ya que las bacterias, antes de producir su acción patógena, deben llegar al organismo, colonizar, a veces penetrar pasivamente y producir la infección. En algunos casos, como en la escarlatina, además de la toxina, coadyuva a la acción lesional la existencia de reacciones de hipersensibilidad que pueden producir complicaciones (glomerulonefritis).

Infecciones predominantemente invasivas

Tienen lugar cuando la acción patógena se considera debida fundamentalmente a la capacidad de invasión de los tejidos, ya que no se conoce la existencia de toxinas ni de reacciones de hipersensibilidad.

El ejemplo más típico es el neumococo *(S. pneumoniae)* considerado como una bacteria invasiva pura. Inoculado por vía intraperitoneal al ratón, produce una sepsis mortal en 24 horas. En el hombre, el cuadro más frecuente es la neumonía lobar. Se considera que la acción patógena es debida fundamentalmente a la acción antifagocitaria de su cápsula y a su capacidad de desarrollo en diferentes tejidos, en especial en el pulmón, donde produce un exudado alveolar que dificulta la hematosis con la consiguiente acidosis; no parece que las pequeñas cantidades de hemolisina y neuraminidasa que elabora intervengan en la patogenia de la enfermedad. También se incluyen en este grupo otras bacte-

rias, como el bacilo pestoso *(Y. pestis)* y el meningococo *(N. meningitidis)*.

Infecciones por acción combinada

Se producen cuando intervienen factores invasivos y lesionales en diferente proporción e intensidad, y son las infecciones que se presentan con mayor frecuencia.

Capacidad de invasión

En relación con la *capacidad de invasión* pueden originarse:

Infecciones localizadas. Se producen cuando las bacterias sólo son capaces de:

1. Multiplicarse en la superficie de la piel o de las mucosas (impétigo, anginas).
2. Penetrar y multiplicarse en los tejidos subepiteliales sin difundir (furúnculo, absceso).

Infecciones invasivas o generalizadas. Se observan cuando, además, son capaces de penetrar, multiplicarse e invadir el organismo. La difusión puede ser:

1. *Por contigüidad,* como en la erisipela, producida por estreptococos del grupo A que difunden por el tejido celular subcutáneo de la cara y cuello, o los cuadros disentéricos, producidos por *Shigella* o *E. coli* enteroinvasivos que invaden la mucosa del colon.
2. *Por vía sanguínea,* como en la fiebre tifoidea y la brucelosis, donde *S. typhi* y *B. melitensis,* después de una fase de multiplicación en el sistema linfático, se diseminan por la sangre con localizaciones secundarias en diversos órganos y tejidos.
3. *Por vía linfática,* como en la tuberculosis, donde *M. tuberculosis* es captado por los fagocitos en los que se multiplica y transportado a través del sistema linfático a diferentes órganos o tejidos.

Capacidad lesional

En relación con la *capacidad lesional,* las alteraciones patológicas pueden ser producidas por toxinas y, en algunos casos, por reacciones de hipersensibilidad (mecanismo inmunológico).

Toxinas. Las toxinas pueden ser:

1. *Exotoxinas,* que sin ser la causa fundamental de la enfermedad constituyen uno de sus factores determinantes. Se pueden incluir las hemolisinas o toxinas de *S. aureus* (α, β, γ y δ), las estreptolisinas O y S de *Streptococcus* del grupo A, las leucocidinas, las enterotoxinas de *Salmonella* y *Shigella* e incluso diversos exofermentos producidos durante el desarrollo de las bacterias en el organismo, que se supone que contribuyen de alguna manera a la acción tóxica o lesional.
2. *Endotoxinas,* que son la causa de la fiebre, alteraciones vasculares, diarrea y postración, las cuales se observan en las infecciones por bacilos gramnegativos.

Reacciones de hipersensibilidad:

1. En las infecciones agudas por lo general no intervienen como mecanismo patogénico o lo hacen pocas veces. Sólo algunos exantemas infecciosos se consideran producidos por reacciones de hipersensibilidad de tipo 1. Sin embargo, pueden ser la causa de algunas complicaciones como la fiebre reumática y la glomerulonefritis, que pueden presentarse en las reinfecciones por estreptococos del grupo A (reacciones de tipo 2 y 3).
2. En las infecciones de mayor duración o de forma subaguda podrían intervenir mecanismos inmunológicos. En la brucelosis, la típica curva febril (fiebre ondulante), y los granulomas que se producen en diversos órganos con necrosis central pueden ser debidos en parte a estos fenómenos.

En la fiebre tifoidea, aunque se considera que la acción patógena es debida a la endotoxina, hay que tener en cuenta que, al igual que la mayoría de las infecciones endotóxicas, probablemente el aumento de acción de la endotoxina se efectúa por el mecanismo de las reacciones de hipersensibilidad inespecífica, tipo fenómeno de Schwartzman.

3. En algunas infecciones crónicas no se conoce la existencia de toxinas, y las lesiones se consideran producidas fundamentalmente por mecanismos de hipersensibilidad celular (tipo 4), como ocurre en la tuberculosis, lepra y linfogranuloma venéreo.

INFECCIONES MIXTAS

La etiología de las enfermedades infecciosas es por lo general única y el cuadro patológico está producido por una sola especie microbiana. Sin embargo, cada vez es más frecuente la observación de casos de etiología múltiple o infecciones mixtas, cuando la enfermedad se produce como consecuencia de la asociación de dos o más especies.

Se observan sobre todo en las infecciones abdominales (abscesos, peritonitis) consecutivas a perforaciones espontáneas (ulcus, divertículos, apéndice), perforación traumática o intervenciones quirúrgicas, así como a infecciones ginecológicas (pelviperitonitis) y del sistema nervioso (abscesos cerebrales), piel (úlceras necróticas, quemaduras), tejidos blandos (abscesos, gangrena) y huesos (osteomielitis). En estos casos se produce una asociación entre aerobios o anaerobios facultativos (*S. aureus, S. faecalis, Pseudomonas, E. coli, Klebsiella, Proteus*) y anaerobios estrictos (*Clostridium, Bacteroides, Fusobacterium, Peptoestreptococcus, Streptococcus* microaerófilos).

Los ejemplos más demostrativos se encuentran entre los anaerobios. Las infecciones por anaerobios estrictos se consideran por lo general como infecciones mixtas, pues incluyen la asociación con un anaerobio facultativo, cuya multiplicación en los tejidos produce una disminución del potencial de óxido-reducción necesario para el desarrollo del anaerobio. En la *peritonitis experimental del ratón,* para la formación de abscesos se precisa la inoculación de un anaerobio estricto con un anaerobio facultativo. La *gangrena posquirúrgica* se produce como consecuencia de la asociación de un estreptococo anaerobio o microaerófilo con un anaerobio facultativo (estafilococo o bacilo gramnegativo). En la *gangrena gaseosa traumática,* se encuentra un mayor número de especies en combinaciones diversas.

También se ha observado que *Bacteroides melaninogenicus*, para desarrollarse y manifestar su acción patógena, necesita la asociación con otras especies de anaerobios o de aerobios, que suministren los factores de crecimiento necesarios para su desarrollo, probablemente vitamina K.

Por otra parte, las infecciones que destruyen o alteran la barrera cutaneomucosa facilitan las infecciones por gérmenes potencialmente patógenos u oportunistas de la flora normal; son las infecciones secundarias o superinfecciones, como las que se producen en el aparato respiratorio de forma simultánea o sucesiva a infecciones por virus (gripe y neumonía estafilocócica) o por micoplasmas (*M. pneumoniae* con oportunistas) o bacterianas mixtas (*S. pneumoniae* con *Bacteroides o Klebsiella*).

En las infecciones mixtas, el cuadro patológico es debido a la acción conjunta de dos o más especies, que, cuando se desarrollan simultáneamente, pueden considerarse como casos de sinergismo bacteriano en cuanto a la acción patógena. En estos casos, la primera especie facilitaría la expresión de la acción patógena de la segunda por mecanismos diversos:

1. Alterando las mucosas y facilitando su penetración.
2. Creando las condiciones respiratorias (óxido-reducción) necesarias para su multiplicación.
3. Suministrando un factor de crecimiento esencial para su desarrollo.

BIBLIOGRAFIA

Véase la del capítulo 17 (pág. 201).

Capítulo 17

Relación huésped-bacteria (V)

Agustín Pumarola

RESISTENCIA INESPECIFICA A LA INFECCION

Frente a la acción patógena de los microorganismos, el huésped puede presentar diversas modalidades de defensa o de respuesta inmunitaria, que, según su especificidad y origen, pueden agruparse en dos categorías: mecanismos inespecíficos y específicos.

Mecanismos de defensa inespecíficos (respuesta inmunitaria inespecífica). Son mecanismos naturales o innatos presentes en todos los seres vivos (congénitos), que defienden frente al ingreso de cualquier patógeno (inespecíficos). Su eficacia es desigual, impidiendo muchas veces la infección o sólo retardando su aparición. También se denominan mecanismos de resistencia o de inmunidad natural inespecífica. Es la resistencia que presentan todos los organismos a dejarse penetrar por primera vez por un patógeno.

Mecanismos de defensa específicos (respuesta inmunitaria específica). Son, por el contrario, mecanismos que aparecen en el curso de la vida en algunos seres vivos (adquiridos), que defienden frente a determinados patógenos (específicos) y que son por lo general de grado elevado. Es la inmunidad adquirida o resistencia específica que suele producirse activamente como consecuencia de una infección o vacunación por un patógeno y que defiende frente a contagios posteriores.

La colonización y penetración de patógenos en el organismo están dificultadas por numerosos obstáculos y mecanismos naturales que impiden su paso a los tejidos. Frente a los factores determinantes del poder patógeno, el huésped es capaz de oponer diferentes mecanismos de defensa o factores de la resistencia, que actúan a dos niveles distintos: las defensas externas, sistema complejo que opera en el epitelio superficial, y las defensas internas, constituidas por los factores celulares y humorales del medio interno, y debe tenerse en cuenta que estos factores no actúan de forma aislada, sino estrechamente asociados, tanto en la superficie como en el interior del organismo, en el área local, regional o general.

Los mecanismos de resistencia son los sistemas más primitivos de defensa, en especial las barreras externas y la fagocitosis, cuya evolución ha marchado paralela con su desarrollo filogenético. En los seres primitivos unicelulares, la propia célula presenta actividad fagocitaria; en los organismos multicelulares existe ya un rudimento de barreras y células especializadas para la fagocitosis. En los vertebrados inferiores aparecen, además, sistemas específicos de reconocimiento, que en los vertebrados superiores adquieren su máxima complejidad. A pesar del alto grado de perfección alcanzado, hay que tener en cuenta que los mecanismos de defensa en el hombre dependen en gran parte de estos dos sistemas básicos, las barreras externas y la fagocitosis.

DEFENSAS EXTERNAS

Están constituidas por el epitelio cutaneomucoso que forma un revestimiento continuo del organismo. En esta primera línea de defensa cabe destacar la existencia de factores mecánicos, físico-químicos, sustancias bactericidas, anticuerpos locales, fagocitos y una flora normal, que actúan en estrecha relación. Probablemente, muchas bacterias no son patógenas por su incapacidad de sobrepasar esta primera línea de defensa.

Factores mecánicos

Piel (fig. 17-1). La presencia de la epidermis seca, queratinizada e impermeabilizada por la secreción sebácea constituye un obstáculo mecánico muy difícil de superar si una acción traumática, maceración o anormalidad fisiológica no destruyen su integridad. Además, la continua descamación de la capa córnea y la función de arrastre de las secreciones sebácea y sudoral eliminan gran número de bacterias. En general, la mayoría de microorganismos son incapaces de penetrar a través de la piel intacta cuyas únicas soluciones de continuidad están representadas por las aberturas de los conductos excretores de las glándulas sudoríparas, sebáceas y folículos pilosos, que constituyen puntos de penetración microbiana, sobre todo cuando existen alteraciones funcionales de las glándulas (obstrucción de las glándulas sebáceas).

Mucosas. Las mucosas, aunque de menor resistencia, están menos expuestas a traumatismos por recubrir superficies internas; en ellas existen numerosos reflejos defensivos que impiden el acceso de partículas que pudieran vehicular bacterias, y, además, están bañadas por secreciones glandulares, especialmente por el moco, entre cuyos componentes se encuentra la mucina, glicoproteína muy hidrófila y no atacable por los fermentos digestivos, que fija las bacterias, las transporta y elimina del organismo.

Aparato respiratorio. En el aparato respiratorio, las anfractuosidades de los cornetes, los pelos nasales, el moco y el epitelio ciliado de la tráquea y bronquios (fig. 17-2) constituyen una defensa muy eficaz (sistema mucociliar), que fija los microorganismos que ingresan con el aire durante la inspiración y que por el movimiento ciliar son transportados por la corriente de moco, confluyendo en la base de la lengua y faringe, donde son deglutidos y destruidos por la secreción gástrica. Los reflejos de la tos y del estornudo colaboran en esta acción defensiva. Se ha observado que las partículas mayores de 10 μm de diámetro son rápidamente eliminadas por la mucosa nasal, las de 2 a 10 μm se fijan en la mucosa bronquial y las menores de 2 μm pueden alcanzar los bronquiolos y aun llegar al alveolo pulmonar. Se ha calculado que la corriente de moco presenta una velocidad de 1-2 cm por hora y al cabo de pocas horas elimina la mayoría de bacterias. Las infecciones por virus y micoplasmas, la toxina de *B. pertussis* y el humo del tabaco alteran la función ciliar, requisito para la aparición de infecciones bacterianas de las vías respiratorias inferiores. En los alveolos pulmonares no hay moco ni epitelio ciliado, pero existen células macrofágicas que fagocitan las bacterias y las transportan a los ganglios linfáticos, lo que supone un mecanismo de eliminación mucho más lento (1-6 meses). Cuando las bacterias son capaces de sobrevivir en los macrófagos (*M. tuberculosis*), la fagocitosis representa muchas veces un mecanismo de transporte y de iniciación de la infección.

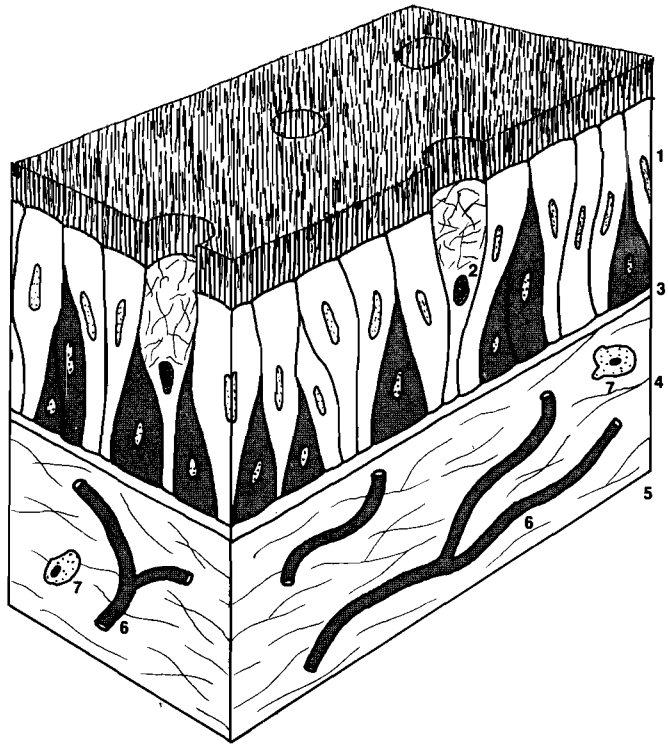


Fig. 17-2. Mucosa respiratoria. 1, Epitelio ciliado; 2, células caliciformes; 3, membrana basal; 4, lámina propia; 5, submucosa; 6, vasos; 7, macrófagos.

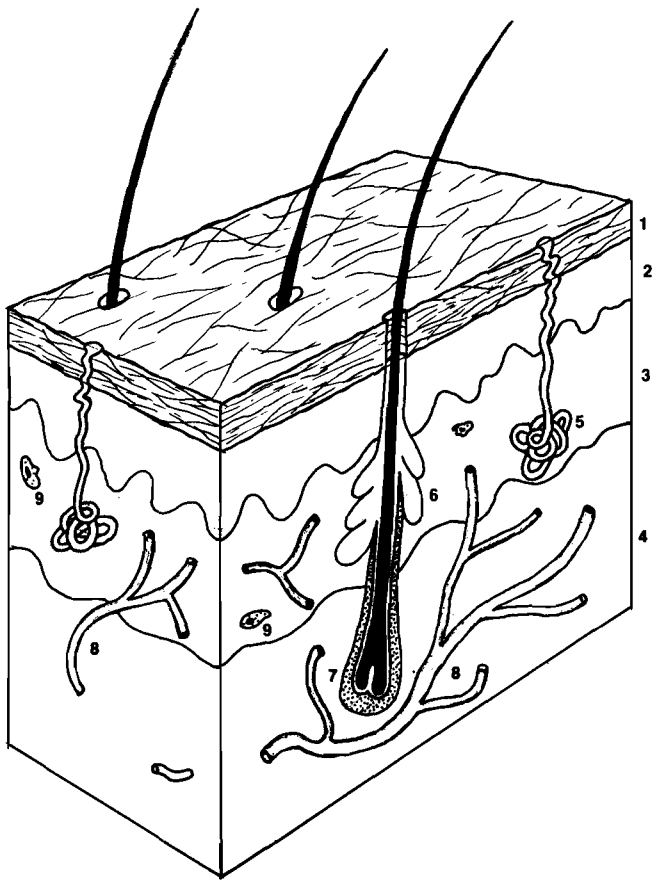


Fig. 17-1. Piel. Epidermis: 1, estrato córneo; 2, estrato espinoso; 3, corion o dermis; 4, tejido celular subcutáneo o hipodermis; 5, glándula sudorípara; 6, glándula sebácea; 7, folículo piloso; 8, vasos; 9, macrófagos.

Aparato digestivo. En el aparato digestivo existen mecanismos de eliminación semejantes, representados por el moco, los movimientos de arrastre de los alimentos en la orofaringe, esófago y estómago, los movimientos peristálticos del intestino y de las vellosidades intestinales y la secreción de las glándulas de la mucosa, que arrastran las partículas hacia el intestino grueso para ser eliminadas por las heces al exterior. El intestino grueso se comporta como una caldera de fermentación, o mejor como un quimiostato, ya que el ingreso constante de microorganismos y su multiplicación está equilibrado por su eliminación fecal.

Tracto urinario. En el tracto urinario, la orina, que es estéril, realiza un lavado cada 2-3 horas eliminando las bacterias que se encuentran en el tercio anterior de la uretra, evitando las infecciones ascendentes. Pero cuando se alteran los mecanismos de eliminación y se produce estasis o retención de orina (anormalidades de las vías urinarias, presencia de cálculos, adenoma de próstata), las bacterias pueden multiplicarse, al ser la orina un buen medio de cultivo para determinadas especies. En estos casos, las infecciones urinarias son mucho más frecuentes, en especial en la mujer, por ser la uretra más corta.

Conjuntiva. De la misma manera en la conjuntiva, la secreción lagrimal ayudada por el reflejo palpebral, que actúa como un limpiaparabrisas, transporta las lágrimas a la cavidad nasal, lo que es un método de eliminación muy eficaz.

La colonización de los epitelios se produce cuando las bacterias presentan adhesinas, que les permiten fijarse en los receptores de las células epiteliales, o la función mecánica de arrastre se altera por cualquier causa (descamación y actividad glandular de la piel, sistema mucociliar del aparato respiratorio, movimientos peristálticos y de las vellosidades en el tubo digestivo, estasis urinaria, alteraciones de las glándulas lagrimales o del reflejo palpebral). En estos casos, incluso bacterias sin capacidad de adherencia son capaces de desarrollar una acción patógena.

Factores físico-químicos

El pH de las secreciones y mucosas, en especial la acidez, representa un mecanismo de defensa al crear condiciones desfavorables a la multiplicación microbiana. En la piel, las secreciones sudorípara y sebácea forman un manto ácido que dificulta la colonización por bacterias patógenas. En el tubo digestivo, la acidez gástrica constituye una barrera para la mayoría de bacterias, con algunas excepciones (*M. tuberculosis*), que puede ser sobrepasada cuando aquéllas están protegidas por los alimentos o se anula la secreción por cualquier causa (neoplasias, anemia perniciosa, gastrectomía). La dosis infectiva (DI50) para *S. typhi* (10^4) y *V. cholerae* (10^8) en condiciones normales se reduce extraordinariamente cuando existen factores que disminuyen o anulan la acidez gástrica.

También la acidez actúa como un mecanismo de defensa de la mucosa vaginal. Durante la infancia, el pH de la mucosa vaginal es alcalino y no protege frente a las infecciones, pero, a partir de la pubertad y a consecuencia de la circulación de estrógenos, se acumula glucógeno en las células de la mucosa, que al ser metabolizado por *Lactobacillus* (bacilos de Dödderlein) da lugar a la producción de ácido láctico, que acidifica la mucosa (pH 4,5) e inhibe el desarrollo de la mayoría de patógenos, a excepción de algunos estreptococos y bacilos difteroides. A partir de la menopausia, al no formarse glucógeno, la secreción vaginal se hace de nuevo alcalina, y son más frecuentes su colonización e infección. Por tanto, a partir de la pubertad se genera un sistema de defensa antimicrobiano de la mucosa vaginal, precisamente durante la época en que existen mayores posibilidades de contaminación. Lo mismo ocurre en la mucosa digestiva de los niños sometidos a lactancia materna, pues la leche favorece el desarrollo de *Lactobacillus* que producen un pH ácido. También el pH ácido de la orina es el responsable de su acción bacteriostática.

Sustancias bactericidas

En las secreciones de la piel y mucosas se han descrito diversas sustancias de origen celular que presentan una acción bacteriostática o bactericida. Se pueden citar:

Acidos grasos no saturados de la secreción sebácea de la piel. Presentan una acción bactericida sobre bacterias y hongos. Las tiñas infantiles desaparecen con la pubertad como consecuencia de la instauración de la secreción sebácea.

Lisozima de las secreciones y células. Es una proteína de bajo peso molecular que presenta la propiedad de hidrolizar el peptidoglicano, que constituye el polímero estructural de la pared celular de las bacterias, en los enlaces glucosídicos de la cadena de aminoazúcares. En consecuencia, no se forma el peptidoglicano y la bacteria muere por lisis osmótica. Se encuentra en la piel, saliva, secreción nasal y lagrimal, líquidos orgánicos y en las granulaciones de los leucocitos polinucleares. Presenta una acción preferente sobre las bacterias grampositivas, cuya pared celular está compuesta casi exclusivamente por el peptidoglicano, pero se supone que también puede actuar sobre los bacilos gramnegativos, cuando el lipopolisacárido que recubre el peptidoglicano es eliminado por la acción de los fagocitos o del complemento.

Bilis en el intestino delgado. Constituye un factor antibacteriano que sólo permite el desarrollo de un número muy limitado de especies (*S. faecalis, E. coli, Proteus, Salmonella, Shigella, Pseudomonas*). También los fermentos del intestino delgado presentan cierta acción antibacteriana.

Lactoferrina. Por su capacidad de combinarse y secuestrar el hierro, presenta una acción bacteriostática sobre diversos microorganismos, especialmente *E. coli*, en la leche humana e intestino del niño, y se ha comprobado que la administración de hierro aumenta la frecuencia de las sepsis neonatales.

Lactoperoxidasa de la leche y saliva. Contribuye a la acción antimicrobiana, pues en presencia de H_2O_2 cataliza la oxidación del tiocianato en ion hipotiocianato de acción inhibidora sobre *E. coli* y diversas bacterias.

Proteínas básicas. Son proteínas liberadas por las células y tejidos alterados en el curso del proceso inflamatorio, que presentan propiedades antibacterianas. Se han descrito diversas protaminas e histonas, así como la espermina y espermidina, que actúan frente a estafilococos y *M. tuberculosis* y se combinan con los polisacáridos ácidos que se encuentran en la superficie bacteriana.

Presencia de urea en la orina o de sus productos de descomposición. Facilitan el desarrollo de *P. mirabilis* y presentan cierta acción inhibidora sobre otras especies, al igual que algunas sustancias contenidas en el líquido prostático.

Anticuerpos locales, fagocitos y flora normal

En las mucosas hay que considerar además: *a)* la existencia de *anticuerpos locales* del tipo IgA secretora (mucoanticuerpos, coproanticuerpos); *b)* la presencia de *fagocitos*, y sobre todo c) de una *flora microbiana normal*, de gran importancia por su papel de barrera defensiva y acción antagónica frente a los patógenos (cap. 14).

Las *IgA secretoras* se hallan en las mucosas (respiratoria, digestiva, urinaria) y en las secreciones salival y láctea, y están sintetizadas por células especializadas de la submuco-

sa, de manera que la exposición de las mucosas a diversas sustancias antigénicas da lugar a la producción de anticuerpos locales. La colonización de la mucosa intestinal por patógenos induce la aparición de IgA específicas, pero, además, se ha observado que en la madre da lugar a la aparición de anticuerpos específicos en la leche. Esta conexión enteromamaria explica que, en la leche de las madres que viven en zonas endémicas (*Salmonella, Shigella, V. cholerae*), existan anticuerpos específicos, que constituyen una importante protección pasiva frente a los agentes productores de diarreas en los niños sometidos a lactancia materna, acción a la que contribuyen la lactoferrina y el pH ácido de la mucosa intestinal en estos niños. Es interesante señalar, además, que, en las personas ya expuestas, la vacunación por vía parenteral produce una reacción anamnésica sérica y, además, local, que incrementa la protección de las mucosas, así como el contenido en IgA específicas de la leche, lo que permite proteger al recién nacido sometido a lactancia materna frente a las infecciones del primer año de vida, procediendo sólo a la vacunación de la madre.

DEFENSAS INTERNAS

Una vez atravesadas las barreras cutaneomucosas, los microorganismos patógenos se encuentran en el tejido conectivo subepitelial frente a la segunda línea de defensa, constituida por los factores celulares y humorales del medio interno.

Factores celulares

El tejido conectivo, formado por células y sustancia fundamental, está atravesado por vasos sanguíneos y linfáticos, dispuestos en forma de red. Mientras que el sistema circulatorio es cerrado, no ocurre lo mismo con los vasos linfáticos, que son permeables a las bacterias y células. Las bacterias son conducidas por la linfa a los ganglios linfáticos regionales, que actúan a manera de filtro, debido a su ramificación y al elevado número de células fagocitarias que ahí se encuentran, a la vez que constituyen el lugar de síntesis de los anticuerpos. El sistema linfático local y regional representa un importante mecanismo de defensa, pero, si además ocurre una inflamación que representa un mayor aporte de factores humorales y celulares en el lugar de la infección, los procesos de fagocitosis y de eliminación son mucho más intensos y eficaces.

Inflamación

Uno de los primeros fenómenos que se oponen al ingreso y difusión de los patógenos es la *inflamación local en la puerta de entrada*. Se produce como consecuencia de la liberación, por parte de los microorganismos y de las células dañadas, de factores que activan diversos sistemas de proteínas plasmáticas, en especial el sistema del complemento (fragmentos C3a y C5a), el sistema de las quininas y la agregación plaquetaria, que provocan una *respuesta humoral y celular*. En la *respuesta humoral* se produce la liberación de: *a)* sustancias vasoactivas (histamina, serotonina, quininas), que producen vasodilatación con aumento de la permeabilidad capilar, lo que facilita la extravasación de plasma y de diversas sustancias a los espacios intersticiales (complemento, anticuerpos naturales, fibrinógeno, factores de la coagulación, sustancias bactericidas); *b)* sustancias quimiotácticas y promotoras de la leucocitosis, que producen una hiperplasia de la medula ósea y una descarga de leucocitos a la sangre, y *c)* enzimas, que transforman el fibrinógeno en fibrina, formando una red en los tejidos intersticiales que fijan los microorganismos en el foco, todo lo cual contribuye a la reacción inflamatoria.

La *respuesta celular* se inicia con la marginación de los polinucleares y su adherencia al endotelio, primero del lado de la lesión y más tarde en forma más generalizada, etapa previa para su paso por diapédesis entre las células endoteliales. Una vez en los tejidos, responden con movimiento direccional a los estímulos quimiotácticos, que facilitan su llegada al foco inflamatorio, donde fagocitan activamente los microorganismos por el mecanismo de fagocitosis en superficie o mediante la acción preparadora de las opsoninas. La función de esta primera línea de defensa, aunque importante, es limitada, ya que son células de vida corta que no se multiplican *in situ*, si bien pueden continuar llegando a partir de los vasos. El pH se hace ácido y las proteasas celulares producen la lisis de los leucocitos, que a su vez liberan sus enzimas lisosómicas, contribuyendo a alterar las células y tejidos (granulaciones primarias) o a incrementar el estímulo inflamatorio (granulaciones secundarias). De esta manera se forma el pus constituido por leucocitos y tejidos alterados.

Más importantes para la defensa local son las células mononucleares de la sangre y sistema linfático, en especial los monocitos, que emigran de los vasos y llegan al foco, pero que, a diferencia de los polinucleares, sobreviven durante largo tiempo y son capaces de multiplicarse en los tejidos y transformarse en macrófagos, que junto con los ya existentes en el área inflamada fagocitan y digieren los microorganismos y células alteradas. Cuando es imposible efectuar su digestión y eliminación, al igual que frente a los cuerpos extraños, se forman células epitelioides y gigantes que poco a poco se transforman en fibroblastos, elementos fundamentales para la reparación tisular y formación de la cicatriz.

Otras células, como los eosinófilos, también pueden intervenir en la inflamación, aunque su papel en la fagocitosis debe considerarse secundario, y toman parte en la detoxicación de las proteínas y de sus productos de descomposición. Se observan sobre todo en los procesos inflamatorios debidos a reacciones de hipersensibilidad, enfermedades alérgicas e infestaciones parasitarias, y se produce en estos casos un aumento de eosinófilos en sangre periférica (eosinofilia) como consecuencia de la liberación de linfoquinas por los linfocitos T sensibilizados, en especial de histamina y del factor quimiotáctico para los eosinófilos (ECF-A).

Cuando el proceso no se resuelve a nivel local, la linfa transporta los microorganismos y células a los *ganglios regionales*, donde se produce una reacción inflamatoria más intensa, con nueva emigración de polinucleares y activación de los macrófagos, en un intento de eliminar el agente e impedir su difusión a la sangre y órganos vecinos.

Cuando el microorganismo invade la sangre y se distribuye por los órganos y tejidos, se produce una *reacción general* e intervienen los polinucleares y macrófagos de los endotelios capilares, que se encuentran más concentrados

en determinados órganos (bazo, hígado, medula ósea), que tienden a eliminar los microorganismos en la zona esplácnica (aclaramiento esplácnico) y en el área pulmonar, donde se produce una gran acumulación de fagocitos en los capilares alveolares.

En estos casos, el aporte continuado de sustancias vasoactivas, quimiotácticas y promotoras de la leucocitosis produce hiperplasia y descarga de leucocitos maduros e inmaduros de la medula ósea, que incrementa las cifras normales de leucocitos y de polinucleares neutrófilos en las infecciones por bacterias piógenas (leucocitosis con neutrofilia), con algunas excepciones, como en la fiebre tifoidea y brucelosis (leucopenia con linfomononucleosis relativa).

El resultado de la infección depende del número y virulencia de los microorganismos y de la rapidez e intensidad con que operan los mecanismos de resistencia inespecífica, de manera que, si la respuesta celular es lo suficientemente rápida e intensa para interferir la multiplicación de los microorganismos, éstos se eliminan y la infección se resuelve, pero, si su número es elevado o la multiplicación ya se ha producido, los mecanismos de defensa pueden ser ineficaces.

Fagocitosis

En último término, la eliminación del agente patógeno se produce por fenómenos de fagocitosis, cuya importancia como mecanismo de defensa se conoce desde los estudios de Mevnikov. Para este autor, la capacidad defensiva del organismo radicaría en determinadas células que tendrían la capacidad de captar y destruir toda clase de elementos extraños que hubieran logrado penetrar en el organismo.

Células implicadas. Son los fagocitos constituidos por dos tipos fundamentales de células: los leucocitos polinucleares neutrófilos y el sistema fagocitario mononuclear, compuesto por los monocitos de la sangre y los macrófagos de los tejidos (tabla 17-1).

Leucocitos polinucleares neutrófilos (fig. 17-3). Se encuentran en la sangre, donde constituyen del 60 al 70 % de los leucocitos. Derivan de una célula precursora y pluripotencial de la medula ósea *(stem cell)*, y después de un proceso de multiplicación activa y maduración se hacen móviles y pasan a la sangre, pero quedan un gran número de leucocitos maduros en la medula ósea como reserva.

Son células redondeadas de 10-14 μm de diámetro, que presentan el núcleo segmentado y el citoplasma con numerosas granulaciones o lisosomas, que contienen enzimas y sustancias bactericidas. Existen dos tipos fundamentales: las *granulaciones primarias* o *azurófilas*, que contienen una gran variedad de fermentos (mieloperoxidasas hidrolasas ácidas, proteasas neutras) y de sustancias antimicrobianas (lisozima, proteínas catiónicas, sustancia mucoide ácida), que intervienen en la inactivación y digestión intracelular de las bacterias, y las *granulaciones secundarias* o *específicas*, que contienen sustancias antibacterianas, como la lactoferrina, lisozima y colagenasa, que actúan fundamentalmente en el proceso inflamatorio. Existen, además, en el citoplasma microfilamentos responsables del movimiento y microtúbulos en relación con su morfología y el proceso de desgranulación.

Los polinucleares se caracterizan por su movimiento ameboide y la propiedad de adherirse a los endotelios vasculares, que les permite emigrar rápidamente por diapédesis de los vasos a los tejidos. Son células de vida corta (6-8 horas en los vasos, 2-3 días en los tejidos), que no se multiplican y, como consecuencia de su contenido en sustancias bactericidas y glucógeno, presentan una actividad fagocitaria inespecífica, por lo general fuera de los vasos, que llega en la mayoría de los casos a la destrucción de los microorganismos por sus enzimas lisosómicas.

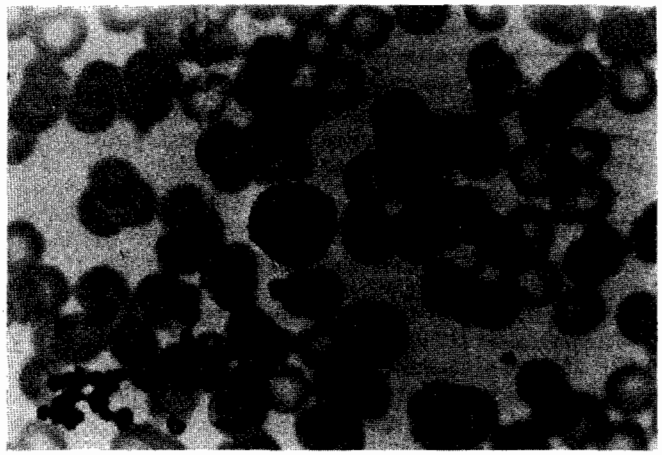
Tabla 17-1. Características de los fagocitos

	Leucocitos polinucleares	Fagocitos mononucleares
Producción	Medula ósea	Medula ósea
Maduración	Medula ósea	Medula ósea y diversos tejidos
Localización	Sangre	Sangre (monocitos) y tejidos (macrófagos)
Lisosomas	1. *Gránulos primarios*	
Enzimas y sustancias más importantes	Lisozima Mieloperoxidasas Hidrolasas ácidas Proteasas neutras Proteínas catiónicas Sustancia mucoide ácida	Lisozima Hidrolasas ácidas Interferón Fibronectina, etc. (tabla 19-8)
	2. *Gránulos secundarios* Lactoferrina Lisozima Colagenasa	
Vida media (tejidos)	2-3 días	Meses o años
Multiplicación	No	Sí
Función	1. Acumulación en zonas inflamadas 2. Fagocitosis de patógenos	1. Acumulación en zonas inflamadas 2. Fagocitosis de patógenos y de células anormales o alteradas 3. Preparación y transporte del antígeno

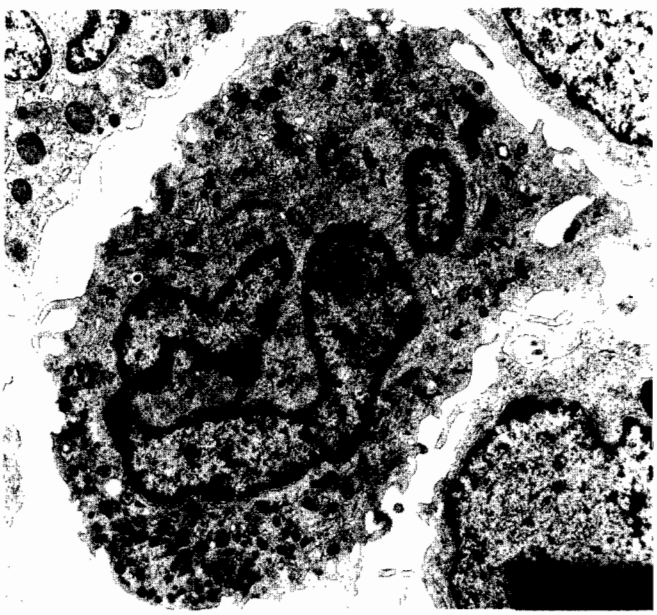
Sistema fagocitario mononuclear. Los fagocitos mononucleares están distribuidos por todo el organismo especialmente en la sangre (monocitos) y tejidos (macrófagos). Derivan de células precursoras de la medula ósea, los monoblastos y promonocitos, que después de un proceso de división dan lugar a los monocitos que pasan rápidamente a la sangre, sin que queden reservas en la medula ósea.

1. *Monocitos* (fig. 17-4). Son células de mayor tamaño que los polinucleares (15-30 μm), con el núcleo redondeado y un citoplasma escaso, que contiene granulaciones pequeñas, apenas visibles. Son células fagocitarias y bactericidas con poca capacidad de multiplicación, que constituyen del 3 al 7 % de los leucocitos de la sangre. A las pocas horas emigran a los tejidos donde se desarrollan y diferencian dando lugar a los macrófagos tisulares.

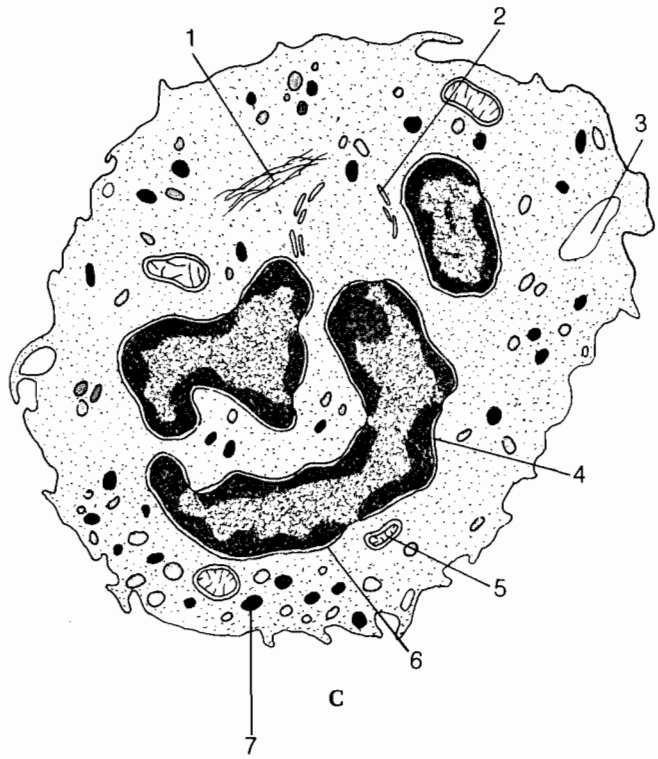
2. *Macrófagos tisulares* (fig. 17-5). Son células mayores, de núcleo redondeado y citoplasma más abundante, con granulaciones lisosómicas y vacuolas, que presentan actividad fagocitaria, y pueden sobrevivir durante meses y aun años. La gran mayoría derivan de los monocitos de la sangre y tienen la capacidad de multiplicarse localmente. Son



A

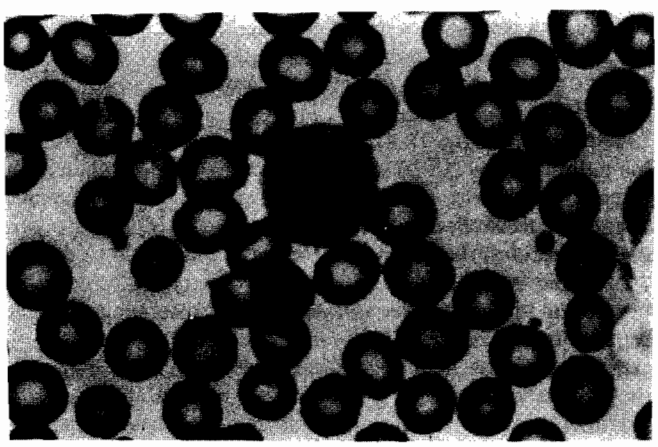


B

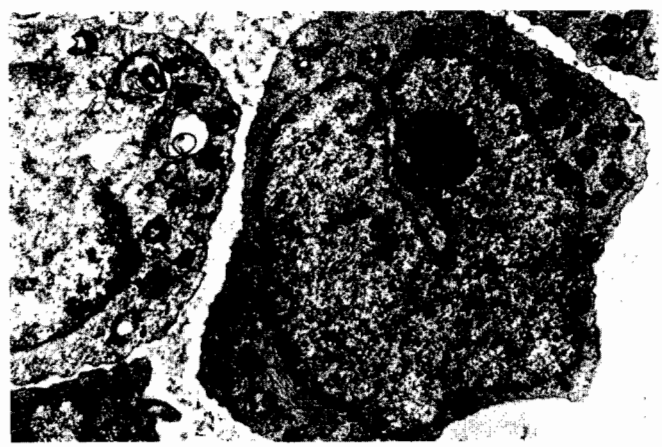


C

Fig. 17-3. Leucocito polinuclear neutrófilo. A) Microscopia óptica. B) Microscopia electrónica (6.000 × 3). C) Esquema, 1, Fibrillas; 2, aparato de Golgi; 3, vacuolas; 4, eucromatina; 5, mitocondrias; 6, heterocromatina; 7, lisosomas.



A



B

Fig. 17-4. Monocito sanguíneo. A) Microscopia óptica. B) Microscopia electrónica (≈ × 15.000).

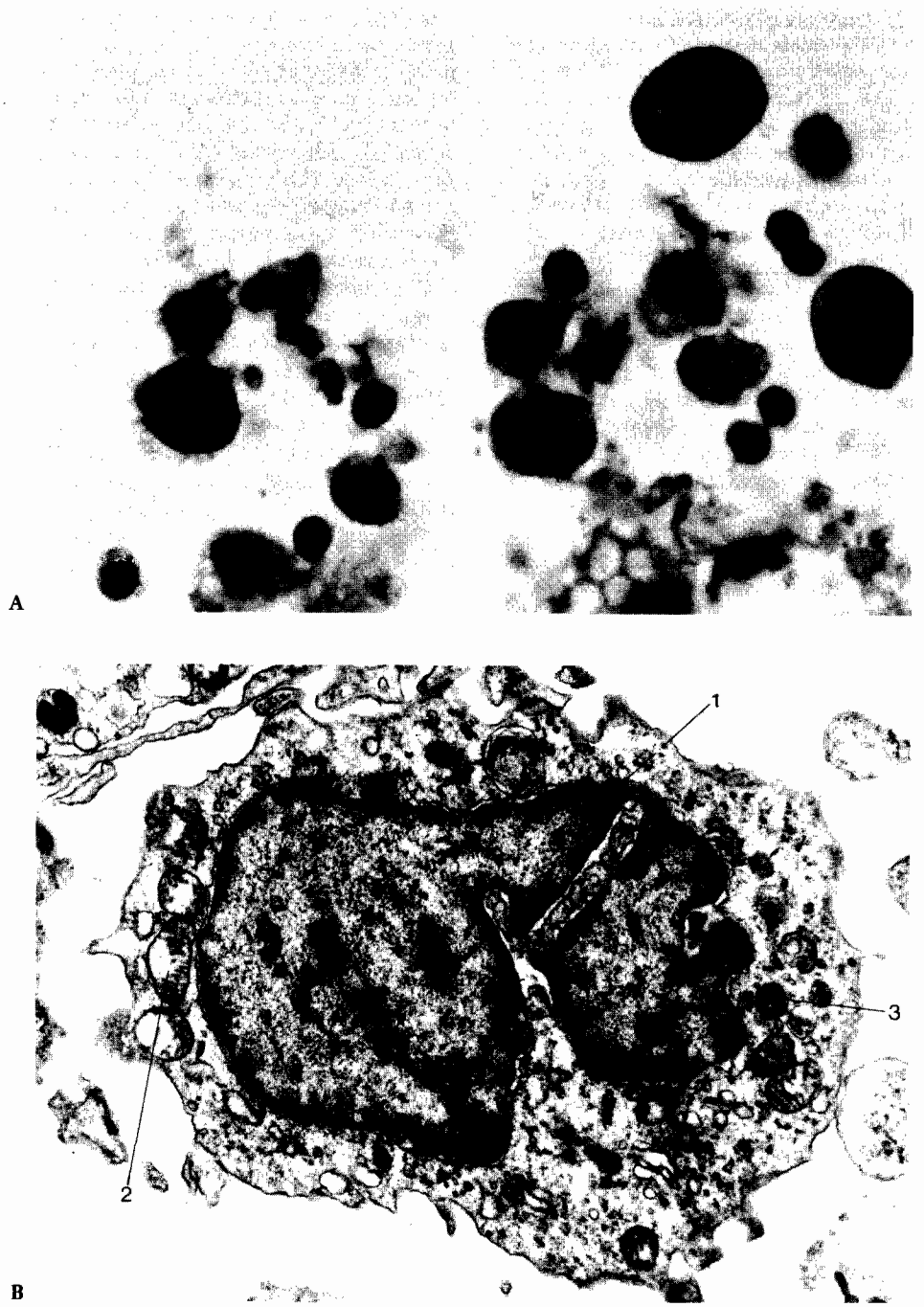


Fig. 17-5. Macrófagos tisulares. A) Microscopia óptica. B) Microscopia electrónica (6.000 × 4). 1, Núcleo; 2, mitocondrias; 3, lisosomas.

células de diversa morfología, localización, metabolismo y capacidad fagocitaria; las células *más activas* se encuentran libres en el tejido conectivo (histiocitos), hígado (células de Kupffer), bazo y ganglios linfáticos (macrófagos de los sinusoides), pulmones y peritoneo (macrófagos alveolares y peritoneales), hueso (osteoclastos) y sistema nervioso (células de microglia). También se han incluido células *menos activas*, como las reticulares de los órganos y las dendríticas de los folículos del bazo y ganglios linfáticos. Aunque todas estas células constituyen el sistema reticuloendotelial, en la actualidad se ha considerado más adecuado incluir sólo los fagocitos más activos que tienen un mismo origen, con la denominación de sistema fagocitario mononuclear (tabla 19-7).

Presentan en su citoplasma lisosomas que contienen una dotación variable de enzimas hidrolíticas, lisozima e interferón y carecen por lo general de mieloperoxidasas y proteínas catiónicas. Tienen la misión de fagocitar las partículas, microorganismos y células alteradas que se encuentran en los focos inflamatorios, actividad que puede ser natural e inespecífica, o inducida y específica. Los macrófagos se activan por diversas sustancias (endotoxinas, ARN bicatenario), con lo que aumenta su metabolismo y tamaño, la

Tabla 17-2. Factores quimiotácticos

Suero	Células	Bacterias
Complemento (C5a, C567)	Linfocitos (linfoquinas)	Lípidos *Corynebacterium* anaerobios
Calicreína	Células cebadas (histamina, ECF-A)	*M. tuberculosis* (*cord factor*)
Fibrinopéptidos	Polinucleares	Proteínas *E. coli*
	Macrófagos	

membrana se hace ondulante y se incrementa la actividad de las enzimas lisosómicas y con ello la fagocitosis.

Por otra parte, los macrófagos producen la degradación controlada del antígeno, no alterando los grupos determinantes de la especificidad, que transportan los linfocitos y células plasmáticas, lo que representa un enlace con los fenómenos de inmunidad adquirida.

Fases de la fagocitosis. *Quimiotaxis.* Para que la fagocitosis pueda tener lugar, es necesario que los fagocitos emigren al foco inflamatorio y puedan establecer contacto con los microorganismos.

Esta acción se facilita por la liberación, a partir de los microorganismos y de las células alteradas, de sustancias quimiotácticas, que orientan (microtúbulos) y estimulan el movimiento de los leucocitos (contracción de los microfilamentos de actina) hacia la zona inflamada, donde existe la máxima concentración de estas sustancias (taxinas).

Aunque los mecanismos de la quimiotaxis son en gran parte desconocidos, se sabe que presentan actividad quimiotáctica (tabla 17-2):

1. Algunos componentes del suero, como diversas fracciones del complemento (C3a, C5a, C567) producidas por activación por la vía normal o alternativa, asimismo sustancias pertenecientes al sistema de las quininas (calicreína) y de la fibrinólisis (fibrinopéptidos).
2. Factores de origen celular, que se producen a partir de los linfocitos activados por el antígeno (linfoquinas), células cebadas (histamina, factor quimiotáctico para los eosinófilos o ECF-A), leucocitos y macrófagos.
3. Factores de origen microbiano, que pueden ser de naturaleza lipídica (*cord factor* de *M. tuberculosis*, factores de *Corynebacterium* anaerobios) o proteica (*E. coli*).

Adherencia. La segunda fase es la de reconocimiento y adherencia del microorganismo a la membrana del fagocito, que requiere la presencia de cationes divalentes y no depende de la temperatura. Aunque esta fase puede ser inespecífica y casual como consecuencia de la acumulación de fagocitos en el área inflamada (fagocitosis de superficie), en la mayoría de los casos se encuentra facilitada por la presencia de sustancias que preparan los microorganismos para la fagocitosis; son las «opsoninas» que pueden formar parte tanto de los mecanismos de defensa inespecífica como específica. Estas sustancias facilitan el reconocimiento de las bacterias por los fagocitos, en este sentido actúan algunos componentes del complemento (C3b, C4b) y los anticuerpos específicos frente a los antígenos superficiales de las bacterias (IgG, IgM), pues en la superficie de los fagocitos existen receptores específicos para las opsoninas C3b, C4b y el fragmento Fc de la IgG, así como para el factor quimiotáctico C5a. En consecuencia, la adherencia se podría producir por los siguientes mecanismos (fig. 17-6):

1. Las bacterias activan el complemento por la vía alternativa con formación de fragmentos C3b, que presentan la propiedad de fijarse en el antígeno y unirse específicamente con los receptores de los polinucleares y macrófagos.
2. Cuando las bacterias se combinan con anticuerpos específicos, se facilita su fijación a la membrana de los fagocitos; esta fijación puede ser débil o inespecífica (IgM) o más intensa cuando en la membrana del fagocito existen receptores específicos (IgG).
3. Los complejos formados por las bacterias con anticuerpos específicos (IgG, IgM) pueden a su vez activar el complemento por la vía normal, que produce la fijación de fragmentos C3b que refuerzan la adherencia.

También se comportan como opsoninas no específicas para los macrófagos fijos las proteínas del suero de la clase α_2 y β, así como la proteína C reactiva y algunos polipéptidos (tuftsina) y glicoproteínas (fibronectina) para los fagocitos circulantes (tabla 17-3).

Por otra parte, en relación con los fenómenos de adherencia microbiana, se ha podido demostrar que en la superficie de las bacterias pueden existir adhesinas para los fagocitos (cap. 15) y en la membrana de los fagocitos receptores específicos para estas adhesinas, de manera que una misma adhesina podría facilitar por sí sola la infección y la fagocitosis, o estos fenómenos podrían ser debidos a adhesinas diferentes.

La fagocitosis de las bacterias capsuladas, siempre difícil, se puede realizar en ausencia de anticuerpos por el fenómeno de la *fagocitosis de superficie*, que se produce en las

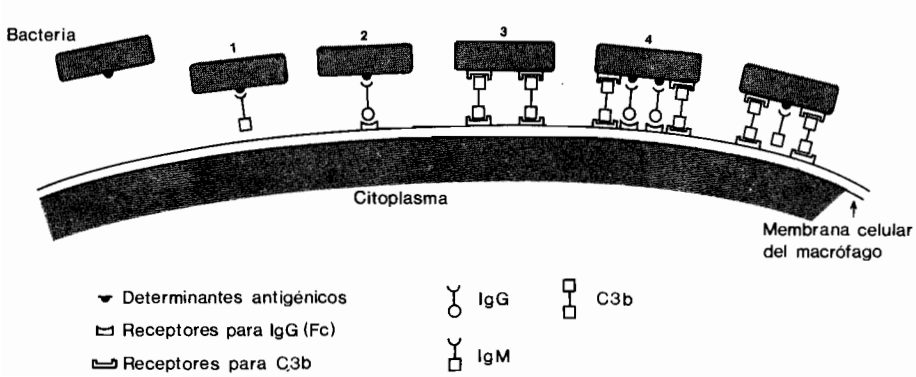


Fig. 17-6. Mecanismos de adherencia bacteriana al fagocito. 1) Bacteria + Ac. específicos (IgM): fijación débil (no existen receptores en los fagocitos). 2) Bacteria + Ac. específicos (IgG): fijación intensa (receptores para IgG). 3) Bacteria + fragmentos C3b: fijación intensa (receptores para C3b). 4) Bacteria + Ac. específicos (IgM o IgG) y fragmentos C3b: fijación muy intensa (receptores para IgG y C3b).

Tabla 17-3. Fase de adherencia

Opsoninas	Receptores en fagocitos
Suero	
Complemento, C3b, C4b	C3b }
Anticuerpos, IgG, IgM	C4b } Opsoninas
Proteínas α_2, β	IgG }
Fibronectina, tuftsina	C5a: factor quimiotáctico
Bacteria	
Adhesinas para fagocitos	

áreas de circulación lenta (capilares), alveolos pulmonares y zonas inflamadas, donde la existencia de superficies rugosas con pequeños depósitos de fibrina fijarían las bacterias y la liberación de polipéptidos básicos, que actuarían como opsoninas, facilitaría la fagocitosis.

Ingestión. Los fagocitos tienen por misión englobar los materiales particulados (fagocitosis) o solubles (pinocitosis) para aislarlos del organismo y proceder a su digestión intracelular y eliminación. Después de la fase de adherencia se produce una alteración de los receptores específicos de la membrana, que estimulan el mecanismo bioquímico de la fagocitosis. Se produce la polimerización de la actina en microfilamentos, la contracción del citoplasma y la emisión de pseudópodos que rodean la partícula, dando lugar a la formación de una vacuola fagocitaria o «fagosoma», proceso que requiere energía y la presencia de iones Ca^{++} y Mg^{++}. Por microcinematografía se ha observado que los fagocitos presentan un fino velo hialoplásmico muy activo y móvil (*lamellapodium*), que fija las partículas y las incorpora al citoplasma por retracción e invaginación de la zona gelificada. El fagosoma emigra en el citoplasma y su membrana se fusiona con la membrana de los lisosomas que descargan su contenido en la vacuola (desgranulación), formándose el «fagolisosoma» o vacuola digestiva, donde se produce la digestión intracelular del microorganismo por las sustancias y enzimas lisosómicas del fagocito (fig. 17-7). El proceso de desgranulación se inhibe en las infecciones por *Toxoplasma gondii*.

Digestión intracelular. Como consecuencia de la fase de adherencia, se activan las enzimas responsables del metabolismo oxidativo, que se encuentran en la membrana citoplásmica y se observa un aumento de la actividad metabólica del fagocito. Se produce un aumento del consumo de oxígeno, de la oxidación de la glucosa (glucólisis) por la vía del hexosamonofosfato y de la actividad de las oxidasas (NADPH, fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleótido), que por reducción de oxígeno molecular (O_2) y transferencia de un electrón da lugar a la producción de superóxido (O_2^-) de acuerdo con la reacción: $NADPH + O_2 \rightarrow NADP^+ + O_2^- + H^-$. El superóxido es un producto muy inestable en medio ácido que da lugar espontáneamente o por la acción de la enzima superóxido-dismutasa a la formación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y otros radicales de oxígeno muy reactivos, como el radical hidroxilo (OH·) y radicales libres de oxígeno ($^1O_2$ o *singlet* oxígeno), que difunden por el citoplasma al fagosoma. Asimismo se produce la desgranulación de los lisosomas que vierten su contenido en la vesícula fagocitaria y se forma el fagolisosoma; primero, se vierten los gránulos secundarios (lactoferrina, lisozima) y, después, los gránulos primarios (hidrolasas ácidas, mieloperoxidasas, proteínas catiónicas); el pH se acidifica (3,5-4), lo que facilita la activación de las enzimas.

La *acción bactericida de tipo oxidativo* es la más eficaz y se produce mediante la formación de superóxido y otros radicales que presentan una acción bactericida directa, y sobre todo a través del sistema mieloperoxidasa-peróxido de hidrógeno-factor haluro (Cl^- o I^-) (fig. 17-8).

La mieloperoxidasa puede utilizar el H_2O_2 y un cofactor halógeno oxidable (haluro) para destruir una gran variedad de bacterias, micoplasmas, virus y hongos, y se han propuesto diversos mecanismos para explicar su acción bactericida:

1. Por halogenación de las proteínas bacterianas, en especial de los residuos de tirosina y grupos SH. En presencia de Cl^- se formarían cloraminas tóxicas que alterarían la estructura de las proteínas con pérdida de su actividad funcional.
2. Por descarboxilación oxidativa de las proteínas de la pared celular y transformación de los aminoácidos en aldehídos tóxicos.
3. Por oxidación directa de las estructuras sensibles de la bacteria por radicales libres de oxígeno muy reactivos ($^1O_2$).

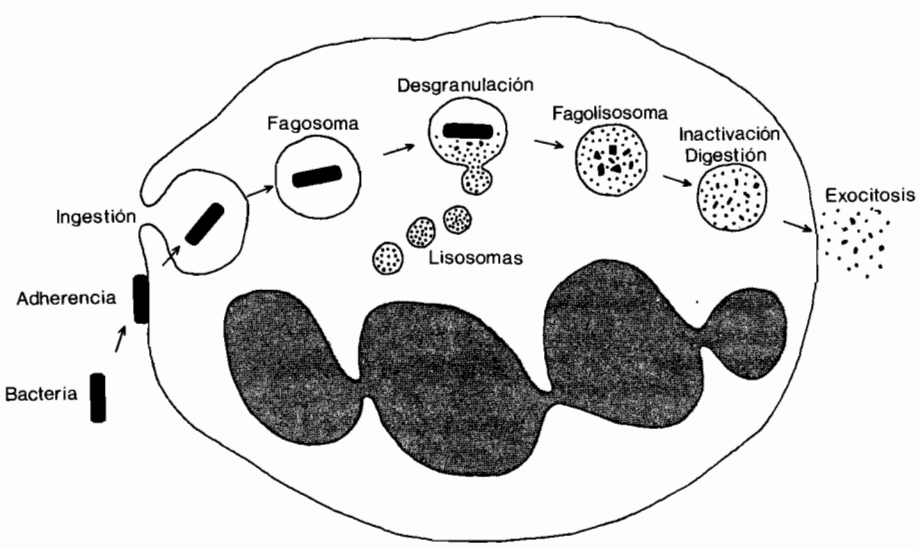


Fig. 17-7. Fagocitosis. Adherencia, ingestión y digestión intracelular de las bacterias.

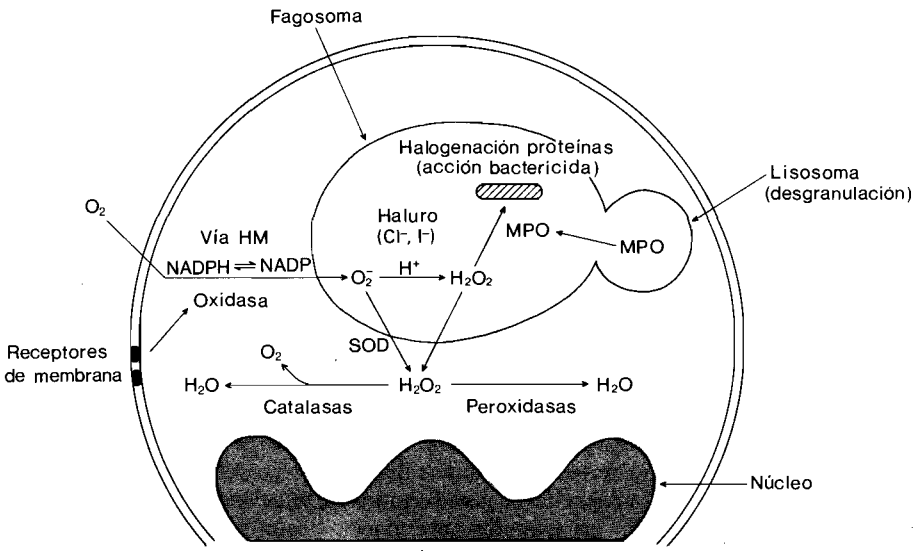


Fig. 17-8. Digestión intracelular. Mecanismos oxidativos de inactivación bacteriana.

Este sistema no actúa sobre las bacterias que producen catalasa, enzima que descompone el peróxido de hidrógeno (tabla 17-4).

Por otra parte, los polinucleares presentan *mecanismos bactericidas independientes del oxígeno*. Así, la brusca disminución del pH, que se produce en la vesícula fagocitaria como consecuencia de los cambios metabólicos de la célula, a veces es suficiente para inhibir el desarrollo o destruir las bacterias más sensibles, como el neumococo. Pero, además, se han obtenido de los leucocitos diversas sustancias antibacterianas, como las leuquinas, fagocitina y otras proteínas básicas, que alteran la permeabilidad de la membrana de los microorganismos, así como la lactoferrina, que, al secuestrar el hierro, produce una acción bacteriostática. Las bacterias inactivadas son descompuestas y digeridas posteriormente por la acción de diversas enzimas lisosómicas, como el lisozima que hidroliza el peptidoglicano de la pared celular y las numerosas hidrolasas y proteasas que descomponen las demás estructuras de la bacteria (proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos).

Tabla 17-4. Fase de digestión

1. *Mecanismos de la acción letal*
   - *a) Dependientes de oxígeno*
     - Glucólisis por la vía del hexosa-monofosfato
     - Activación de oxidasas
     - Formación de superóxido y peróxido de hidrógeno. Acción bactericida
     - Sistema mieloperoxidasa-H_2O_2-Cl^-, que intensifica la acción bactericida
   - *b) Independientes de oxígeno*
     - Disminución del pH en fagolisosoma
     - Lactoferrina
     - Proteínas catiónicas (fagocitina)
2. *Digestión intracelular*
   - Lisozima: pared celular
   - Hidrolasas ácidas: otras estructuras
3. *Resultado*
   - Lisis de la bacteria
   - Lesiones tisulares (exocitosis, ingestión con regurgitación)
   - Supervivencia de la bacteria (ingestión sin digestión)
   - Destrucción del fagocito (leucocidinas)

Resultados de la fagocitosis. En la mayoría de los casos se produce la lisis o destrucción del microorganismo en un período de tiempo inferior a 1 hora, aunque algunos componentes de la cápsula o de la pared celular son difícilmente metabolizables y pueden persistir durante largo tiempo. En ocasiones, las enzimas lisosómicas, en especial las proteínas con actividad de elastasas, colagenasas y proteinasas, pueden descargarse al exterior y producir *lesiones en los tejidos;* esto ocurre cuando los lisosomas se fusionan con la membrana citoplásmica del fagocito (exocitosis) o la del fagosoma antes de su cierre (ingestión con regurgitación), lo que se observa en la fagocitosis de los complejos antígeno-anticuerpo.

En otros casos, la ingestión puede no ir seguida de digestión, sino que el *microorganismo puede sobrevivir (Mycobacterium, Brucella)* y aun multiplicarse en el interior del fagocito que le sirve de medio de protección (anticuerpos, sustancias bactericidas) y de transporte. Se considera que esto puede ser debido a sustancias producidas por el microorganismo, que a partir del fagosoma difunden al citoplasma e inhiben la fusión de los lisosomas (ingestión sin digestión).

Por último, el microorganismo fagocitado puede elaborar sustancias que ocasionan la *muerte del fagocito*, como ocurre con la producción de leucocidinas por los estafilococos patógenos, que destruyen y lisan los leucocitos.

Factores humorales (sustancias bactericidas del suero)

Desde fines de siglo pasado se conoce que el suero sanguíneo normal presenta cierto poder bactericida. Buchner localizó esta acción en una sustancia natural termolábil, que denominó alexina o complemento que se incluye dentro de los mecanismos de resistencia inespecífica, porque no se forma en respuesta a la introducción de un antígeno y no aumenta con la inmunización. Posteriormente se han descrito numerosas sustancias en el suero y extractos celulares del hombre y de los animales, dotadas de propiedades antibacterianas *in vitro*, pero cuyo papel en los mecanismos de resistencia no se conoce con certeza:

Lisozima. Enzima que descompone el peptidoglicano de la pared celular de las bacterias, de acción preferente sobre las grampositivas.

Proteínas básicas. Proteínas de origen celular, liberadas durante el proceso inflamatorio que presentan una acción antibacteriana u opsónica sobre las bacterias grampositivas, como la espermina, leuquinas, plaquinas, β-lisinas, o las grampositivas y negativas, como la fagocitina.

Proteína C reactiva. Globulina β que se encuentra en el suero durante los procesos inflamatorios generalizados y tiene la propiedad de precipitar con el carbohidrato C del neumococo, en presencia de iones Ca^{++}. Se ha demostrado que activa el complemento e incrementa la reacción inflamatoria y la fagocitosis.

Fibronectina. Es una glicoproteína de elevado PM, que se encuentra en el plasma, líquidos tisulares y superficie de las células, y se considera formando parte de los mecanismos naturales de defensa por su acción moduladora sobre la adherencia y la fagocitosis.

Interviene en los procesos de eliminación de sustancias extrañas del organismo y en la protección frente a las infecciones por grampositivos, pues se fija en la superficie de estafilococos (proteína A) y estreptococos (sin proteína M) por medio del ácido lipoteicoico promoviendo su agregación y fagocitosis. Por otra parte, la fibronectina celular facilita la fijación de *S. aureus* a las células de la mucosa, enmascarando los receptores para las bacterias gramnegativas.

Anticuerpos naturales. Inmunoglobulinas (generalmente IgM) que se encuentran en el suero de personas normales, con características físico-químicas e inmunológicas diversas.

Se consideran como anticuerpos adquiridos a consecuencia de una infección inaparente anterior con el mismo antígeno o con antígenos relacionados, exógenos o endógenos, especialmente por componentes de la propia flora, y están dirigidos fundamentalmente frente a bacterias gramnegativas.

Interferón. Proteínas de bajo peso molecular, producidas por las células de diversos tejidos, como consecuencia de inducción por virus u otras sustancias de origen bacteriano, que presentan la propiedad de inhibir la replicación intracelular de los virus.

Properdina. Globulina del suero que interviene en la activación del complemento por la vía alternativa y presenta actividad bactericida.

Complemento. Sistema natural compuesto por diversas proteínas séricas dotadas de actividad enzimática que intervienen en los mecanismos de resistencia inespecífica, contribuyen a la reacción inflamatoria y facilitan la fagocitosis y la bacteriólisis, en ausencia de anticuerpos específicos.

Los factores humorales más importantes en la resistencia inespecífica son el *complemento* y el *interferón*, que se estudian en los capítulos 19 y 64.

Variaciones individuales de la resistencia. El huésped comprometido

Aunque la defensa inespecífica está constituida por mecanismos naturales que nacen con el sujeto, hay que tener en cuenta que su eficacia puede variar según diversos factores individuales, congénitos o adquiridos. Incluso en algunos casos pueden producirse alteraciones que condicionen un gran aumento de la susceptibilidad del huésped a las infecciones, que constituye el denominado huésped comprometido. Los factores más importantes son:

Edad

La susceptibilidad a las infecciones varía con la edad. En general, las enfermedades infecciosas son más frecuentes y graves en la infancia y en las edades avanzadas. En el período embrionario y fetal, algunas infecciones presentan especial gravedad (rubéola, toxoplasmosis). En el recién nacido y primera infancia, la desaparición de los anticuerpos maternos, la falta de opsoninas y la depresión de la fagocitosis y de la respuesta inflamatoria explican la frecuencia de la mayoría de infecciones, que presentan tendencia a producir formas generalizadas (tuberculosis) o metastásicas (infecciones piógenas). En las edades avanzadas, como consecuencia de las alteraciones anatómicas que se producen (bronquiectasias, litiasis, adenoma de próstata) y de la respuesta inmune menos intensa y eficaz, las infecciones respiratorias (bronconeumonías) y urinarias son más frecuentes y presentan una especial gravedad.

Nutrición

La resistencia a las infecciones está relacionada en general con el estado nutritivo, de manera que la alimentación inadecuada mantenida durante cierto tiempo y los estados de malnutrición se encuentran asociados con una mayor frecuencia y gravedad de las infecciones (tuberculosis, sarampión), debido a una disminución de las defensas celulares (fagocitosis) y humorales (complemento e IgA). Las dietas hipoproteicas o deficitarias en vitaminas disminuyen la resistencia de la mucosa respiratoria a las infecciones, aunque es difícil conocer con exactitud la importancia del factor alimentario, ya que el consumo de dietas inadecuadas suele estar asociado con otros factores ambientales y económico-sociales.

Por el contrario, se ha observado que en los estados de hiponutrición o de carencia existe una resistencia aumentada a las virosis, probablemente debido a que, al ser parásitos intracelulares estrictos, necesitan un estado nutritivo normal de las células para producir la infección. Lo mismo ocurre con algunas infecciones por protozoos y hongos.

Factores endocrinos

Como las hormonas intervienen en la regulación de las funciones orgánicas, es evidente que las alteraciones fisiológicas o patológicas del equilibrio endocrino pueden repercutir en la susceptibilidad a las infecciones. Así, durante el embarazo existe una mayor susceptibilidad a ciertas infec-

ciones [hepatitis, varicela, gripe, poliomielitis], cuya mayor gravedad se explica en parte por una depresión de la inmunidad específica y de la función fagocitaria.

Durante la edad infantil, las niñas presentan una mayor frecuencia de vaginitis gonocócica, debido a que los niveles más bajos de estrógenos permiten un pH vaginal más elevado, mientras que a partir de la pubertad existe una mayor resistencia de la mucosa vaginal y de la piel a la mayoría de infecciones y a las dermatomicosis [tiñas], respectivamente. En la diabetes es conocida la mayor frecuencia de infecciones de la piel y mucosas. En los estados de hipotiroidismo y de disfunción suprarrenal existe una predisposición a las enfermedades infecciosas. En relación con los corticoides, se ha observado que, mientras que pequeñas dosis no alteran la resistencia o pueden incluso aumentarla, dosis elevadas incrementan la susceptibilidad por su acción antiinflamatoria y depresora de la fagocitosis y de la respuesta inmune.

Deficiencias de los mecanismos de resistencia

Por otra parte, se ha demostrado la existencia de deficiencias congénitas o adquiridas en los mecanismos de resistencia, que presentan como común denominador una susceptibilidad aumentada a las infecciones.

Tabla 17-5. Deficiencias de los neutrófilos

1. *Cuantitativas*
   - Congénitas
     - Agranulocitosis infantil
     - Neutropenia familiar
     - Neutropenia periódica
   - Adquiridas
     - Fármacos diversos
     - Reacciones de hipersensibilidad
2. *Cualitativas*
   - *a) Intrínsecas*
     - En la quimiotaxis
       - Síndrome del leucocito perezoso
       - Enfermedad de Chediak-Higashi
     - En la formación de O_2^- y H_2O_2
       - Enfermedad granulomatosa crónica
     - En la formación de mieloperoxidasas
       - Deficiencia en mieloperoxidasas
     - En la desgranulación
       - Enfermedad de Chediak-Higashi
   - *b) Extrínsecas o ambientales*, por deficiencia de opsoninas, hiperosmolaridad u otras causas
     - Deficiencias
       - Agammaglobulinemia
       - Deficiencia familiar de C3 y C5
     - Enfermedades
       - Diabetes
       - Mielomas multiples
       - Insuficiencia renal
       - Lupus eritematoso
     - Fármacos
       - Corticoides
       - Fenilbutazona
       - Indometacina
     - Drogas
       - Alcoholismo
       - Drogadicción

Fagocitos

Pueden ser debidas a alteraciones del número o de su función (tabla 17-5).

Alteraciones del número. Las infecciones se presentan con especial frecuencia cuando el número de neutrófilos es inferior a $500 \times mm^3$ o incluso con cifras más elevadas ($1.000\text{-}1.500 \times mm^3$) si van asociadas con un déficit funcional. Se incluyen la *agranulocitosis* congénita infantil y las adquiridas, como consecuencia directa de la administración de fármacos (analgésicos, citostáticos) o por fenómenos de hipersensibilidad (sulfamidas, antibióticos), y las *neutropenias* hereditarias que por lo general evolucionan de forma cíclica (neutropenias periódicas). También existe una disminución del número de fagocitos en la anemia aplásica, leucemias, etc. Los enfermos con déficit exclusivo de los neutrófilos presentan infecciones frecuentes de la piel y de las mucosas, que señalan la importancia de estos leucocitos en la defensa externa.

Alteraciones funcionales. Pueden afectar exclusivamente los neutrófilos con disminución de la motilidad y de la capacidad de responder a los estímulos quimiotácticos *(síndrome del leucocito perezoso)* o a todos los fagocitos, en relación con la capacidad de digestión intracelular o con defectos múltiples. El cuadro más importante es la *enfermedad granulomatosa crónica infantil*, afección hereditaria recesiva ligada al cromosoma X, caracterizada en que, si bien la fase de ingestión en el fagocito es normal, no se produce la digestión intracelular. Los leucocitos transportan los microorganismos a diferentes órganos y tejidos con producción de abscesos y formación de granulomas. Se considera un defecto, probablemente enzimático, en el metabolismo oxidativo de la glucosa, que se manifiesta por dificultad en la destrucción de las bacterias productoras de catalasa. La *enfermedad de Chediak-Higashi* es un trastorno de herencia autosómica recesiva, caracterizado en que los fagocitos presentan lisosomas no funcionales de gran tamaño. Es un defecto múltiple que afecta la quimiotaxis y digestión intracelular, y se manifiesta por infecciones piógenas repetidas, que pueden ser muy graves. También se ha descrito la *carencia de mieloperoxidasas*, afección autosómica recesiva que predispone a la moniliasis generalizada.

Complemento

Se han observado deficiencias congénitas en los diversos componentes del sistema complemento (cap. 21), de las cuales las que afectan C3 y C5, como los síndromes de carencia o disfunción familiar, predisponen al padecimiento de infecciones repetidas. En los recién nacidos existe ya una deficiencia fisiológica de C3 y C5, que se presenta más acentuada en los prematuros.

Alteraciones de las condiciones ambientales

Por otra parte, también se pueden producir alteraciones de la fagocitosis por la existencia de *condiciones ambientales anómalas* (deficiencia en opsoninas, hiperosmolaridad, etc.), que se observan:

1. En los prematuros.

2. En algunas deficiencias (agammaglobulinemia, deficiencias de C3 y C5).

3. En diversas enfermedades agudas y en especial en enfermedades crónicas, infecciosas o no, como diabetes, glomerulonefritis, insuficiencia renal, artritis reumatoide, lupus eritematoso y mieloma múltiple.

4. Por administración de fármacos, en especial corticoides, antirreumáticos (fenilbutazona, indometacina) y drogas (alcoholismo, toxicómanos).

BIBLIOGRAFIA (caps. 13 a 17)

Ajl, S. J.; Kadis, S., y Montse, T. C.: Microbial toxins. Academic Press, London, 1970.

Aly, R.; Shinefield, H. R.; Litz, Ch., y Maybach, H. I.: Role of teichoic acid in the binding of *S. aureus* to nasal epithelial cells. J. Infect. Dis., 141, 463, 1980.

Arbuthnott, J. P., y Smyth, C. J.: Bacterial adhesion in host-pathogen interactions in Animals. En Ellwood, D. C.; Melling, J., y Rutter, P. (dirs.): Adhesion of Microorganisms to Surfaces. Academic Press, London. 1979.

Baquero, F.; Cañedo, T., y Carvajal, A.: Papel patógeno de los microorganismos oportunistas. Medicine n.º 10, 943. Idepsa, Madrid, 1975.

Baquero F., y Asensio, C.: Microcinas. En Portoles, A., y Baquero, F. (dirs.): Aspectos actuales de las relaciones huésped-parásito e interacciones. Monografía. Realigraf, Madrid, 1976.

Barrett, J. T.: Textbook of Immunology. C. V. Mosby, Sant Louis, 1974.

Beachey, E. H.; Eisenstein, B. I., y Ofek, I.: Bacterial adherence in Infectious Diseases. Current concepts (monograph). Kalamazoo, Michigan, 1982.

Brook, T. D.: Biology of Microorganisms, 3.ª ed. Prentice Hall, New York, 1979.

Corpe, W. A.: Microbial surface components involved in adsorption of microorganisms on to surfaces. En Bitton y Marshall (dirs.): Adsorption of Microorganisms to Surfaces, 105. Wiley, New York, 1980.

Costerton, J. W.; Geesey, G. C., y Cheng, K. S.: El mecanismo de adherencia en las bacterias. Investigación y Ciencia (Scientific American), 118, 1978.

Densen, P., y Mandell, G. L.: Granulocytic. Phagocytes. En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., y Bennett, J. E. (dir.): Principles of infectious Diseases. Wiley, New York, 1979.

Duguid, J. P., y Old D. C.: Adherence properties of Enterobacteriaceae. En Beachey, E. N. (dir.): Bacterial Adherence, 185. Chapman and Hall, London, 1980.

Fainstein, V.; Musher, D. M., y Cate, Th. R.: Bacterial adherence to pharyngeal cells during viral infection, J. Infect. Dis., 141, 172, 1980.

Field, M.: Modes of action of Enterotoxins from *V. cholerae* and *E. coli*. Rev. Infect. Dis., 1, 656, 1979.

Finegold, S. F.: Anaerobic Bacteria in Human Disease. Academic Press, London, 1977.

Freter, R.: Prospects for preventing the association of harmful bacteria with host mucosal surfaces. En Beachey, E. N. (dir.): Bacterial Adherence. Chapman and Hall, London, 1980.

Gorbach, Sh.: Microflora intestinal en las diarreas agudas. Medicine. Enf. Infecciosas n.º 10, Idepsa, Madrid, 1975.

Horn, R. G.: Evidence for participation of granulocytes in the pathogenesis of the generalised Schwartzman reaction. J. Infect. Dis., 128 (suppl.), 134, 1973.

Hasper, D. L., y Finegold S. M.: Virulence factors of anaerobic bacteria. Rev. Infect. Dis., 1, 2, 1979.

Kellenius, G.; Molby, R., y Svenson, S. B.: Ocurrence of P-fimbriated *E. coli* in urinary tract infections. Lancet, II, 1369, 1981.

McCloskey, R. V.: Microbial virulence factors. En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases. Wiley, New York, 1979.

Marples, M. J.: Life on the Human Skin. Sci, Am., 220, 108, 1969.

Miller, R. L.; Reichsgott, M. S., y Melmon, K. L.: Biochemical mechanisms of generation of bradykinin by endotoxin. J. Infect. Dis., 128 (supl.), 144, 1973.

Mims, C. A.: The Pathogenesis of Infectious Diseases. Academic Press, New York, 1976.

Mulks, M. H.; Kornfeld, S. J., y Plaut A. G.: Specific proteolysis of human IgA by *Str. pneumoniae* and *H. influenzae*. J. Infect. Dis., 141, 450, 1980.

Noble, W. C.: Skin as a microbial habituat. En Louvois (dir.): Selected Topics in Clinical Bacteriology. Ballière and Tyndall, London, 1976.

Ofek, I.; Beachey, E. H.; Einstein, B. I.; Alkem, M. L., y Sharon, W.: Suppresion of bacterial adherence by subliminal inhibitory concentrations of β-lactam and aminoglycoside antibiotics. Rec. Infect. Dis., 1, 832, 1979.

Orskov, R.: Virulence factors of the bacterial cell surface. J. Infect. Dis., 137, 63, 1978.

Pearce, W. A., y Buchanan, TM.: Attachment role of gonococci pili. J. Clin. Invest., 61, 931, 1978.

Pittman, R.: Pertussis Toxin: The cause of harmful effects and prolonged immunity of Whooping Cough. Rev. Infect. Dis., 1, 401, 1979.

Prier, J. E., y Friedman, H.: Opportunistic Pathogens. University Park Press, Baltimore, 1974.

Rogers, A. J.: Some general considerations on the role of the envelope. En Ellwood, D. C.; Melling, J., y Rutter, P. (dirs.): Adhesion of Microorganisms to Surfaces. Academic Press, London, 1979.

Rogolsky, M.: Non enteric toxins of *S. aureus*. Micr. Rev., 43, 320, 1979.

Root, R. K., y Cohen. M. S.: The Microbicidal Mechanisms of Human Neutrophils and Eosinophils. Rev. Infect. Dis., 3, 565, 1981.

Ruoslahti, E.; Engvall, E., y Hayman, E. G.: Fibronectin. Current concepts of its structure and functions. Collagen Res., 1, 95, 1981.

Savage, D. C.: Adherence of normal flora to mucosal surfaces. En Beachey, E. N. (dir.): Bacterial Adherence. Chapman and Hall, London, 1980.

Skinner, F. A., y Carr, J. C.: The Normal Microbial Flora of Man. Academic Press, London, 1974.

Simpson, Ll.: The Action of Botulinal Toxin. Rev. Infect. Dis., 1, 656, 1979.

Simpson, W. A.; Ofek, I.; Sarasohn, Ch.; Morrisson, J. C., y Beachey, E. H.: Characteristic of the binding of the streptococcal lipoteichoic acid to human oral epithelial cells. J. Infect. Dis., 141, 457, 1980.

Smith, H.: Microbial Surfaces in relation to pathogenicity. Bact. Rev., 41, 475, 1977.

Smith, H.: The determinants of Microbial Pathogenicity. Wiley, New York, 1978.

Smith, H., y Pearce, J. H.: Microbial Pathogenicity in Man and Animals. University Press, Cambridge, 1972.

Stanier, R. Y.: Adelberg, E. C., e Ingraham, J. L.: Microbial World, 4.ª ed. Prentice Hall, New York, 1976.

Svanborg-Eden, C., y Jodel, V.: Attachment of *E. coli* to urinary sediment epithelial cells from urinary tract infections prone to healthy children. Infect. Immunol., 26, 837, 1979.

Tramunt, E. C.: General and nonspecific host defense mechanisms. En Mandell, Douglass y Bennett (dirs.): Principles of Infectious Diseases. Wiley, New York, 1979.

Weinberg, E. D.: Role of iron in host-parasite interactions. J. Infect. Dis., 124, 401, 1971.

WHO: Cell Mediated Immunity and Resistance to Infections. Tech. Rep. Ser., 519, 1973.

Woods, D. E.; Straus, A. C.; Johanson, W. G., y Bass, J. A.: Role of Fibronectin in the Prevention of Adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to Buccall Cells, J. Infect. Dis., 143, 784, 1981.

Parte II

Inmunología

Capítulo 18

El sistema inmunitario. Antígenos

Antonio Rodríguez-Torres

El sistema inmunitario

La *inmunología* es la ciencia que estudia los mecanismos de mantenimiento de la integridad y personalidad biológica del individuo. Este mantenimiento es el objetivo de un complejo sistema genético, orgánico y fisiológico (el *sistema inmunitario*), a través de la *respuesta inmunitaria* y con diversas consecuencias fisiológicas y aun patológicas.

El término *inmunidad* es una expresión de origen jurídico que indica un privilegio de exención. Se utilizó inicialmente para designar el estado de resistencia aumentada frente a un agente infeccioso. Aunque esta acepción sigue siendo válida, dado que la respuesta inmunitaria no es exclusivamente antimicrobiana ni sus consecuencias son siempre defensivas, el término inmunidad se aplica hoy más ampliamente a todo estado de respuesta a una sustancia específica modificado por la exposición previa a dicha sustancia. Por extensión, el concepto actual de inmunidad incluye no sólo el estado resultante, sino también el propio proceso de la respuesta inmunitaria y el conjunto de factores específicos e inespecíficos que intervienen en ella.

La inmunología se inició a mediados del siglo XIX, a raíz de los primeros descubrimientos científicos sobre la respuesta en el curso de las enfermedades infecciosas, pero ha conseguido su consideración de ciencia independiente, con objetivos y metodología propios, en los últimos 50 años. En la actualidad, esta rama de la biología aborda uno de los campos de mayor interés doctrinal, en el que la investigación es más intensa y el avance de los conocimientos más espectacular.

Durante toda su existencia, los seres vivos se ponen en contacto repetidamente con múltiples y variadas sustancias, de diversos orígenes, presentes en el medio ambiente. Frente a la agresión que representan el contacto y penetración de sustancias extrañas, los seres vivos disponen de mecanismos para proceder a su neutralización, eliminación o destrucción. La complejidad y perfección de estos mecanismos aumentan a medida que se avanza en la escala filogenética, desde los seres unicelulares a los mamíferos más evolucionados y el hombre. En los seres superiores, la *respuesta inmunitaria* se pone en marcha de forma indiscriminada frente a cualquier sustancia extraña (respuesta inmunitaria *inespecífica*) o determinadas sustancias, denominadas *antígenos*, que son específicamente reconocidas como extrañas por las células linfoides (respuesta inmunitaria *específica*). Ambos tipos de respuesta actúan de forma concertada y la respuesta específica representa en muchos casos un aumento de la eficacia de los mecanismos inespecíficos.

La capacidad de respuesta específica está sometida a una compleja regulación genética, mediada sobre todo por productos del denominado *complejo mayor de histocompatibilidad*, presentes en las células competentes.

Entre los caracteres más sobresalientes de la respuesta específica destaca la capacidad de *distinción entre lo propio y lo extraño*, que el organismo aprende durante la vida fetal, eliminando los clones celulares capaces de reconocer lo propio *(tolerancia natural)*. En circunstancias patológicas puede fallar este reconocimiento, y el sistema inmunitario considera como extraños a constituyentes propios *(autoinmunidad)*.

Por otra parte, la respuesta presenta una exquisita *especificidad*, que supone la capacidad de apreciar mínimas diferencias en las configuraciones particulares presentes en los antígenos *(epítopes o determinantes antigénicos)* reconocidos por el sistema, que, además, guarda la experiencia del primer contacto con un determinado antígeno *(memoria)*.

El *sistema inmunitario* está disperso por todo el organismo en órganos centrales y periféricos, acúmulos celulares y células circulantes. Está constituido por diferentes estirpes celulares (linfocitos, macrófagos y otras células cooperadoras). Las células y órganos esenciales en la respuesta inmunitaria específica son los pertenecientes al sistema linfoide, a cuya aparición en el desarrollo filogenético va asociada la presentación de este tipo de respuesta. Los linfocitos circulan continuamente por el organismo en una función de inmunovigilancia para el reconocimiento y respuesta a los antígenos extraños.

Las células linfoides constituyen una población funcionalmente heterogénea, que según su maduración y diferenciación conducen a una *respuesta humoral* o a una *respuesta celular*. En la respuesta humoral, mediada por los *linfocitos B* (o *bursa*-dependientes), los elementos efectores son los *anticuerpos* o *inmunoglobulinas*, producidos por las células plasmáticas derivadas de los linfocitos B. En la respuesta celular, debida a los *linfocitos T* (o timo-dependientes), los

elementos efectores son las propias células T sensibilizadas por el antígeno o sustancias liberadas por ellas (*linfoquinas*). Ambos tipos de respuesta no constituyen compartimientos estancos, pueden coexistir frente a un mismo antígeno y precisan en general la cooperación entre ambas poblaciones celulares y con otras estirpes celulares (sobre todo con los macrófagos). La cooperación celular necesaria para que se produzca la respuesta exige el reconocimiento entre las células implicadas, que está mediado por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad.

En determinadas circunstancias, las consecuencias de la respuesta inmunitaria son desfavorables para el individuo, con producción de daño o lesión por mecanismos inmunológicos (*fenómenos de hipersensibilidad*), y, por otra parte, el sistema inmunitario puede presentar deficiencias congénitas o adquiridas en sus elementos, proliferación tumoral de sus clones celulares o respuesta anómala a los propios constituyentes. El estudio de estos procesos constituye el amplio campo de la inmunopatología.

En los capítulos siguientes se aborda el estudio de los conceptos básicos de inmunología, absolutamente imprescindibles en la comprensión de múltiples aspectos de las enfermedades infecciosas, enfermedades alérgicas, síndromes linfoproliferativos, patología tumoral, trasplantes, transfusiones, relaciones maternofetales, deficiencias inmunitarias, etc.

Antígenos

DEFINICION

Clásicamente se considera *antígeno* (Ag) toda sustancia que, al penetrar en un organismo animal dotado de un sistema inmunológico maduro, es capaz de provocar una respuesta inmunitaria y reaccionar específicamente con los productos desarrollados en dicha respuesta.

De acuerdo con esta definición, en los antígenos cabe distinguir dos aspectos fundamentales:

1. *Inmunogenicidad* o *poder inmunógeno* es la capacidad de provocar la respuesta inmunitaria. La sustancia dotada de esta capacidad se denomina *inmunógeno*.
2. *Antigenicidad* o *especificidad antigénica* es la cualidad de unirse y reaccionar con el anticuerpo (Ac) producido o con la célula sensibilizada, en el caso de la respuesta inmunitaria de base celular. La sustancia dotada de esta cualidad se denomina *antígeno* en sentido estricto.

Ambos aspectos se dan simultáneamente en muchas sustancias, pero no en otras. Se trata de propiedades en mayor o menor grado independientes: los inmunógenos están dotados siempre de antigenicidad, pero las sustancias dotadas de especificidad antigénica no siempre son inmunógenas. Denominamos *haptenos* a las sustancias, generalmente de bajo peso molecular, que son capaces de reaccionar con un anticuerpo, pero no lo son por sí mismas de desencadenar su producción por el animal; los haptenos no son inmunógenos, pero tienen especificidad antigénica. Los haptenos pueden hacerse inmunógenos al copularse con una molécula mayor portadora o *carrier*, y en este caso dicha molécula es la responsable de la respuesta inmunitaria y el hapteno lo es de la especificidad de los Ac formados.

Con el término de *alergeno* se designa a ciertos antígenos que inducen reacciones de hipersensibilidad (alérgicas) y que se comportan como inmunógenos o como haptenos.

Hechas estas consideraciones, debemos señalar que, en el lenguaje habitual, los términos de inmunógeno y antígeno se utilizan como sinónimos (concediendo al término antígeno el sentido amplio de la definición clásica).

Existe una inmensa variedad de sustancias inmunógenas en la naturaleza, que constituyen los *antígenos naturales*. Las estructuras organizadas, tales como bacterias, hematíes o tejidos, son *mosaicos antigénicos* que contienen numerosos inmunógenos frente a los cuales se produce una respuesta múltiple. Muchas sustancias de origen *sintético* (p. ej., polipéptidos o polisacáridos) pueden comportarse como inmunógenos en condiciones experimentales. Por último, de forma espontánea o, más habitualmente, artificial, una sustancia química sencilla (hapteno) puede copularse con una molécula mayor portadora, que le conferirá poder inmunógeno y se obtendrá un *antígeno conjugado*.

El suero que contiene los anticuerpos provocados por la administración de un inmunógeno se denomina *antisuero*.

DETERMINANTES ANTIGENICOS E INMUNOGENICOS

Determinantes antigénicos. La antigenicidad no depende de toda la molécula del Ag, ni siquiera de toda su superficie, sino de una pequeña zona de ella, denominada *epítope, grupo determinante* o *determinante antigénico*, que se define como una conformación molecular de la superficie del antígeno que es capaz de combinarse específicamente con una zona complementaria existente en la molécula del Ac producido, denominada *zona combinante*.

Inmunopotencia. La mayor o menor capacidad de una zona de la molécula antigénica, para servir como grupo determinante e inducir la formación de anticuerpos específicos frente a ella, se denomina *inmunopotencia*. En ella intervienen decisivamente, además de factores inherentes a la molécula antigénica, factores genéticos del huésped; por ello, la inmunopotencia sólo puede estudiarse en el seno de una determinada situación Ag/huésped, ya que los diferentes organismos estimulados no producen obligadamente anticuerpos contra las mismas estructuras de una determinada molécula. Dicho de otro modo, organismos de diferentes especies, e incluso individuos de una misma especie, pueden producir anticuerpos de especificidades diferentes frente a un mismo inmunógeno.

Inmunodominancia. En un grupo determinante dado, las subunidades que lo integran (p. ej., radicales de aminoácidos o de monosacáridos) influyen de manera distinta en la reactividad con el Ac producido. Es frecuente que exista un radical que interviene en mayor grado que los otros en dicha reactividad y al que se denomina inmunodominante. La *inmunodominancia* es el grado de intervención de cada

subunidad, dentro de un grupo determinante, en la unión con el Ac específico.

Determinantes inmunogénicos y hapténicos. Para considerar las estructuras que intervienen preferentemente en el poder inmunógeno, *determinantes inmunogénicos*, es necesario tener en cuenta el mecanismo celular de la respuesta inmunitaria. Algunos raros antígenos (p. ej., polisacáridos bacterianos) son capaces de provocar la aparición de anticuerpos por estimulación directa de los linfocitos B, sin intervención de la población linfocitaria T *(Ag timoindependientes)*. Pero la mayoría de las moléculas antigénicas precisan la cooperación de los linfocitos T para que se produzcan los anticuerpos por la población linfocitaria B *(Ag timodependientes)*. En este caso, que es ampliamente el más general, se ha demostrado que los inmunógenos deben poseer, por lo menos, dos tipos de determinantes probablemente diferentes, uno capaz de interaccionar y estimular los linfocitos T *(determinante inmunogénico)* y otro capaz de estimular los linfocitos B y reaccionar con los anticuerpos formados *(determinante hapténico)*.

Una confirmación de lo expuesto se ha obtenido en el estudio experimental realizado con el glucagón, polipéptido hormonal de 3.800 daltons que contiene sólo 29 aminoácidos. Se trata de un antígeno timodependiente cuyo débil poder inmunógeno puede incrementarse con el empleo de adyuvantes. Mediante digestión trípsica del glucagón se han obtenido fragmentos cuyo estudio ha permitido demostrar que los anticuerpos reconocen determinantes existentes en la porción aminoterminal y los linfocitos T reaccionan con determinantes presentes en la porción carboxiterminal.

Un inmunógeno timodependiente se plantea así como una molécula con áreas funcionalmente diversificadas; una parte de ella, que presenta determinantes inmunogénicos capaces de ser reconocidos e interaccionar con las células T, es el soporte de la inmunogenicidad (es el portador o *carrier*), en otra parte de la molécula existen determinantes hapténicos que serán reconocidos por las células B y reaccionarán específicamente con los anticuerpos formados. Ambos tipos de determinantes son necesarios para una respuesta efectiva a los Ag timodependientes.

La respuesta celular mediada por las células T es tan específica como la interacción Ag/Ac, y recientes experiencias indican que pueden existir sobre una misma molécula proteica diferentes determinantes inmunogénicos capaces de ser reconocidos por diversas subpoblaciones funcionales de linfocitos T que resultarán así activados selectivamente. La activación de clones de linfocitos T reguladores (células auxiliares o supresoras) intervendrá en la modulación de la respuesta inmune.

No se conoce bien el mecanismo de actuación de los Ag timoindependientes. Todos ellos parecen ser grandes polímeros con determinantes repetidos y poseer una actividad mitógena que podría causar directamente la proliferación de los linfocitos B. Estos Ag inducen Ac que pertenecen sólo a la clase IgM y no desarrollan memoria.

METODOS DE ESTUDIO DE LOS ANTIGENOS

Nuestros actuales conocimientos sobre los factores que influyen en la inmunogenicidad y la especificidad antigénica se han obtenido mediante diversas experiencias que podemos agrupar en los siguientes apartados:

Estudio de los antígenos naturales

Desde principios del presente siglo se sabe que una proteína tratada por el yodo o el ácido nítrico pierde su especificidad, de tal forma que el antisuero obtenido frente a esta proteína es incapaz de reaccionar con la proteína original y adquiere una nueva especificidad que le permite reaccionar con los antisueros obtenidos con otras proteínas yodadas o nitradas. De la misma forma, un tratamiento suficientemente enérgico puede disminuir o anular el poder inmunógeno de una proteína.

Procediendo a una degradación controlada de un antígeno pueden estudiarse los caracteres de los fragmentos resultantes. Como norma general, la fragmentación comporta una pérdida del poder inmunógeno. Desde los principios de la seroterapia se han tratado los sueros antitóxicos de animales mediante hidrólisis para disminuir precisamente su inmunogenicidad para el hombre. Algunos de los fragmentos resultantes de la degradación de un Ag pueden conservar su capacidad de unirse al anticuerpo formado frente al Ag completo, mientras otros no son capaces de tal unión. Por ejemplo, un fragmento de unos 6.000 daltons de la albúmina sérica humana es capaz de unirse al antisuero frente a ésta. Es evidente, pues, que sólo algunas zonas del antígeno son portadoras de la especificidad, precisamente los determinantes antigénicos ya descritos.

Algunos fragmentos del Ag, obtenidos de la experiencia anterior, son capaces de inhibir en diversos grados la reacción entre el Ag completo y su correspondiente Ac. Los estudios de determinación del grado de *inhibición de la reacción Ag/Ac* han resultado extraordinariamente útiles para delimitar los grupos determinantes y conocer su estructura. Puede utilizarse cualquier modalidad de la reacción Ag/Ac (cap. 22), pero, por su mejor aplicación a los estudios cuantitativos, se ha empleado con preferencia la inhibición de la reacción de precipitación en medio líquido.

El aislamiento y definición química de los grupos determinantes de los antígenos naturales se han realizado con éxito, por ejemplo, en el estudio de la mioglobina del cachalote o la lisozima de huevo, pero el procedimiento es extraordinariamente laborioso y presenta severas limitaciones que se pueden superar con la utilización de antígenos conjugados y sintéticos.

Utilización de antígenos conjugados

Karl Landsteiner a principios del presente siglo introdujo la utilización de antígenos conjugados uniendo sustancias simples, químicamente bien definidas, a proteínas. Estos antígenos conjugados provocan la aparición de anticuerpos específicos dirigidos tanto contra la proteína soporte como contra el grupo químico utilizado que se comporta como hapteno. La reacción Ag/Ac tiene lugar con el hapteno o es inhibida por él. El uso de los conjugados hapteno-proteína ha contribuido decisivamente al esclarecimiento de las características fundamentales de la especificidad antigénica y a la delimitación del concepto de grupo determinante.

En las proteínas, las cadenas laterales de los aminoácidos poseen una variada serie de grupos reactivos que pueden

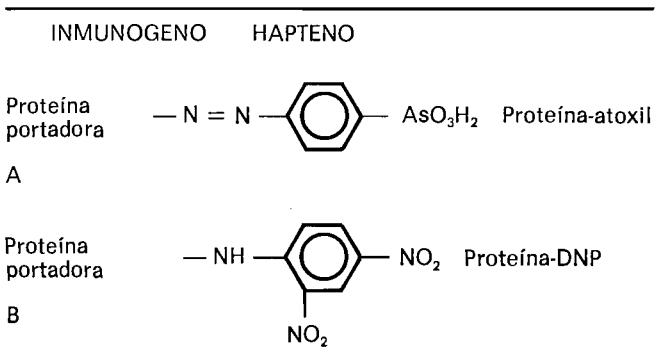


Fig. 18-1. Dos ejemplos de dos antígenos artificiales. A) Unión a una proteína de un derivado de una amina aromática (atoxil) por diazorreacción en los residuos de tirosina o histidina. B) Unión a una proteína del grupo 2,4, dinitrofenil (DNP) en los grupos NH_2 libres de la lisina.

utilizarse para la copulación de otras sustancias. Por ello, los métodos de preparación de conjugados hapteno-proteína son muy numerosos. Dos de los procedimientos más utilizados y algunos de los hallazgos que los han hecho posibles se exponen a continuación.

Landsteiner empleó preferentemente la diazorreacción. Las sales de diazonio, resultado de la reacción de aminas aromáticas con el ácido nitroso en presencia de ácido clorhídrico, son inestables y muy reactivas; dichas sales, en presencia de proteínas, reaccionan con los residuos de tirosina y, en menor proporción, con los de histidina, proporcionando azoconjugados. Por diazorreacción se puede fijar a una proteína un derivado de una amina aromática, como el ácido paraaminofenilarsínico o atoxil (fig. 18-1 A). El atoxil es una sustancia extraordinariamente simple, carente de poder inmunógeno (tabla 18-1), pero, cuando se copula con una proteína portadora por diazorreacción, el Ag conjugado resultante es inmunógeno para el conejo y suscita la producción de Ac que reaccionan con la atoxil-proteína ensayada, con la proteína sola y con otras proteínas que también posean el radical atoxil. Por otra parte, el atoxil solo, mezclado *in vitro* con los Ac, se une a ellos inhibiendo la precipitación que debería ocurrir con la proteína azoconjugada.

Tabla 18-1. Producción de anticuerpos frente a la proteína y al hapteno de un antígeno artificial

Inoculación al conejo	Producción de Ac que reaccionan frente a				
	Atoxil	ASE	Atoxil-ASE	ASH	Atoxil-ASH
Atoxil	–				
Atoxil-ASE	+	+	+	–	+

ASE = albúmina sérica equina; ASH = albúmina sérica humana.
Atoxil = ácido p-aminofenilarsínico (NH_2 —⬡— As O_3H_2).
+ = Reacción Ag/Ac o inhibición; – = ausencia de Ac.

Otro de los procedimientos más extensamente utilizados actúa en los grupos NH_2 libres de la lisina. Sobre ellos se pueden fijar grupos tales como el 2,4, dinitrofenil (grupo DNP) o el 2,4,6, trinitrofenil (grupo picrilo). Por ejemplo, un derivado halogenado, como el fluoro 2,4, dinitrobenceno reacciona en frío con los grupos NH_2 libres de una proteína y se forma el antígeno conjugado con grupos DNP (fig. 18-1 B).

La fabricación de antígenos conjugados es muy versátil y permite la obtención de compuestos con diversos radicales, químicamente muy semejantes, con derivados sustituidos o con isómeros de una misma sustancia, que hacen posible el análisis de la especificidad hasta límites refinados (figura 18-2).

Un buen ejemplo de ello es la experiencia relativa a la importancia de la estereoisomería de los radicales en la especificidad. Conjugando a una misma proteína los tres isómeros del ácido tartárico (tabla 18-2) se observó que los antisueros sólo reaccionaban específicamente con el isómero homólogo, y se presentaban ligeras reacciones cruzadas con los otros dos.

Utilización de antígenos sintéticos

Los polipéptidos y polisacáridos sintéticos, en forma de homopolímeros de un solo aminoácido o azúcar, o de copolímeros lineales o ramificados con diversos aminoácidos o azúcares y estructura bien definida, se han utilizado también ampliamente. Gracias a ellos se han precisado muchos de los factores que condicionan el poder inmunógeno de proteínas y polisacáridos. Por otra parte, los polímeros sintéticos, por ejemplo, una serie de péptidos de tamaño y estructura conocidos, se pueden conjugar con proteínas, lo que ha contribuido notablemente a la precisión de las características de los grupos determinantes.

La utilización de los polímeros sintéticos, por otro lado, se ha demostrado extraordinariamente valiosa en el estudio de la regulación genética de la respuesta inmunitaria.

INMUNOGENICIDAD

Los inmunógenos sólo se comportan como tales si penetran en un organismo capaz de respuesta inmunitaria por

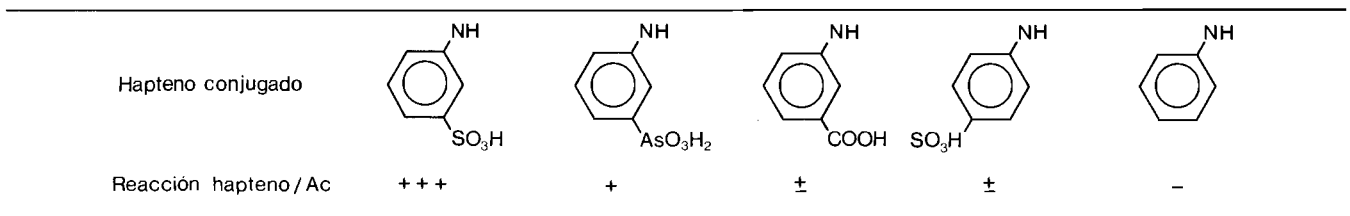


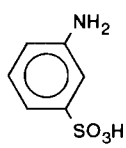
Fig. 18-2. Reacción del antisuero frente a  con otros derivados sustituidos de la misma sustancia. Los símbolos indican la presencia e intensidad de la reacción.

Tabla 18-2. Especificidad de los anticuerpos frente a los estereoisómeros del ácido tartárico

Antisueros de conejo frente a	Reacción de inhibición de la precipitación por los antígenos de		
	Acido d-tartárico	Acido l-tartárico	Acido m-tartárico
Acido d-tartárico-ASE	+++	±	+
Acido l-tartárico-ASE	–	+++	+
Acido m-tartárico-ASE	±	–	+++

ASE = albúmina sérica equina. Los símbolos indican la presencia e intensidad de la reacción.

poseer un sistema linfoide en un período de madurez inmunológica. Puesto que la respuesta es siempre el resultado de la interacción del inmunógeno con el organismo, el estudio de los condicionantes de la inmunogenicidad deberá considerar factores propios a la sustancia antigénica y factores relativos al huésped.

Las circunstancias en las que ocurre una respuesta humoral han sido más estudiadas y son más conocidas que las que concurren en la respuesta celular. Los factores que influyen en la inmunogenicidad parecen similares en ambos tipos de respuesta. Sin embargo, la respuesta celular sólo se consigue frente a sustancias proteicas, mientras que la formación de anticuerpos puede aparecer frente a sustancias no proteicas.

Los Ag pueden poseer un poder inmunógeno elevado, provocando una gran cantidad de Ac tras una sola inyección, o escaso, que no se manifiesta más que tras inyecciones repetidas o incluso sólo con la adición de sustancias adyuvantes. De ahí la distinción entre inmunógenos fuertes, como las hemocianinas, e inmunógenos débiles, como la gelatina.

El estudio de la inmunogenicidad, sobre todo con los inmunógenos débiles, está condicionado por la sensibilidad de las pruebas utilizadas para la detección de los Ac. Determinadas reacciones precisan concentraciones séricas de Ac mucho más importantes que otras, de lo que se deduce la necesidad de seleccionar la técnica idónea para cada caso.

Hechas estas consideraciones de orden general, se exponen a continuación los factores que influyen en la inmunogenicidad y se agrupan en cuatro apartados: carácter extraño al organismo, propiedades físicas y químicas de la sustancia, factores relativos al huésped y factores relativos al modo de administración del inmunógeno.

Carácter extraño al organismo

Se comportan como inmunógenos aquellas sustancias cuya composición y estructura química son diferentes de las del propio organismo, por cuyo motivo el sistema inmunitario es capaz de reconocerlas como extrañas. Sin embargo, si una sustancia dotada de poder inmunógeno en el adulto penetra en el organismo durante el período fetal de inmadurez inmunológica, podrá ser reconocida como propia y no desencadenarse una respuesta inmunitaria a un posterior contacto tras el nacimiento (tolerancia inmunológica).

La constitución química y antigénica de los seres vivos depende de la información genética contenida en su patrimonio hereditario. Dos individuos con genotipo idéntico (singénicos), por ejemplo, gemelos univitelinos, presentan antígenos idénticos en sus células y humores; ninguna de las sustancias constitutivas de uno de ellos es inmunógena para el otro. Pero individuos de la misma especie, no genéticamente idénticos (alogénicos), pueden presentar sustancias constitutivas no idénticas, y con mayor razón individuos de especies diferentes. Por consiguiente, el *carácter extraño al organismo* puede corresponder al origen del Ag en microorganismos, en plantas, en especies animales muy alejadas en la escala zoológica, en especies más próximas o aun en individuos de la misma especie genéticamente distintos. De ordinario, las sustancias son tanto más inmunógenas cuanto más alejada está la especie a la que se inyectan, y la intensidad de la respuesta es proporcional al grado de disparidad genética entre el inmunógeno y el huésped.

Según su *procedencia*, los Ag se pueden clasificar en:

Xenoantígenos

Proceden de microorganismos, plantas u organismos xenogénicos, es decir, de especies diferentes. Los virus de la gripe, los estafilococos, la proteína del maíz o la albúmina sérica humana son inmunógenos para el conejo. El hombre se pone en contacto con xenoantígenos, sobre todo los microbianos y los de origen vegetal, en muy variadas circunstancias, y estas sustancias, a través de sus propiedades biológicas y su inmunogenicidad, son responsables de un amplio espectro de procesos que va desde las infecciones y las enfermedades infecciosas hasta la alergia atópica o la enfermedad del suero.

Aloantígenos

Proceden de individuos alogénicos, es decir, de la misma especie, pero de constitución genética distinta. Estos aloantígenos determinados genéticamente presentan un marcado polimorfismo como consecuencia de la existencia de dos o más (con frecuencia múltiples) alelos en un locus cromosómico. Cada individuo, sin embargo, sólo posee dos alelos en un locus determinado, aunque en la población puede existir un amplio número de alelos. De esta forma, un individuo dado presenta determinados productos de los genes alélicos y no otros, estructuralmente diferentes, que posee otro individuo de la misma especie.

Este tipo de antígenos tiene una importancia capital en inmunopatología. En el hombre, los aloantígenos se encuentran como moléculas de las membranas celulares en los hematíes, determinando los *grupos sanguíneos* ABO, Rh, etc., y en los leucocitos, plaquetas y células de los tejidos, constituyendo los *antígenos de histocompatibilidad* (sistema HLA). Estos últimos determinantes antigénicos, presentes en las células nucleadas de cada individuo, conforman un espectro antigénico personal que sólo se repetirá en un individuo genéticamente idéntico. También existen aloantígenos en las proteínas séricas (donde se denominan *alotipos*), en especial las inmunoglobulinas.

La existencia de los aloantígenos explica que, cuando un individuo recibe una transfusión de sangre o un trasplante de tejido u órgano, que presentan determinantes antigénicos que él no posee, reconoce los hematíes o las células del trasplante como extraños y desencadena una respuesta inmunitaria con reacción transfusional o rechazo del trasplante. En forma similar, la aloinmunización puede ocurrir durante el embarazo; la producción de anticuerpos por la madre frente a los aloantígenos de las células fetales y su posterior paso trasplacentario al feto pueden comportar graves consecuencias para éste, como ocurre en la eritroblastosis fetal por incompatibilidad Rh.

Autoantígenos

En circunstancias excepcionales, las sustancias propias pueden dar lugar a una respuesta inmunitaria en el mismo individuo y se comportan como autoantígenos.

Algunas sustancias permanecen aisladas anatómicamente sin posibilidad de contacto con el sistema inmunitario *(Ag inaccesibles)*, razón por la cual el organismo no las reconoce como propias. Es el caso del cristalino, la tireoglobulina, los espermatozoides y algunos Ag del sistema nervioso central. En el curso de determinados procesos inflamatorios o infecciones pueden suprimirse las barreras que mantienen estos Ag separados de la circulación general, y el organismo manifiesta una respuesta inmunitaria frente a estos inmunógenos, para los cuales no se estableció una tolerancia natural durante el período fetal por su inaccesibilidad. La situación tras procesos de esta naturaleza se denomina *autoinmunidad*.

Por otra parte, las proteínas propias pueden, por diversas causas, sufrir modificaciones que, al cambiar su estructura, las hagan irreconocibles como propias y, en consecuencia, presenten poder inmunógeno para el sujeto, con aparición de anticuerpos capaces de combinarse con la proteína modificada y la original, circunstancia que también se incluye en el concepto de autoinmunidad.

Propiedades físicas y químicas de la sustancia

Las propiedades físicas y químicas de las moléculas antigénicas están ampliamente interrelacionadas entre sí y es difícil con frecuencia discernir el grado de responsabilidad en el poder inmunógeno, que compete a una característica determinada y que se considera aisladamente de otras propiedades que la acompañan o son consecuencia de ella. Sin embargo, el tamaño (es decir, el peso molecular) y la composición química son claramente los factores más relevantes en la inmunogenicidad, por lo que serán considerados en primer lugar, para exponer a continuación la influencia de otras propiedades.

Tamaño

Los diferentes inmunógenos pueden presentarse al sistema inmunológico en forma organizada o particulada (células, bacterias) o en forma soluble. Con independencia de que en el primer caso se trata de mosaicos antigénicos complejos, los Ag particulados suelen ser más inmunógenos que los antígenos solubles.

Las moléculas de escaso peso molecular no son inmunógenas. Para que una sustancia presente poder inmunógeno, es preciso que tenga un tamaño mínimo, cuyo límite, como siempre ocurre en el mundo biológico, es difícil de establecer con carácter general. Sin embargo, puede afirmarse que los inmunógenos eficaces tienen un tamaño superior a 10.000 daltons en el caso de las proteínas y a 100.000 daltons en el caso de los polisacáridos. Ciertamente se conocen sustancias de menor tamaño que parecen dotadas de poder inmunógeno, como, por ejemplo, la insulina (PM, 6.000), el glucagón (PM, 3.800) o la angiotensina (PM, 1.000). Mas para estas sustancias la respuesta es generalmente mínima y no siempre puede excluirse la posibilidad de que, en el seno del huésped, se combinen con proteínas de los tejidos. Si esto ocurre, el inmunógeno será un complejo formado por la pequeña molécula (hapteno) y una proteína del huésped de peso molecular superior a 10.000 *(carrier)*.

Estas observaciones sobre el tamaño como condicionante de la inmunogenicidad se confirman en las experiencias de hidrólisis. Los inmunógenos dejan de serlo cuando se fragmenta suficientemente su molécula.

La intensidad de la respuesta inmunitaria provocada por un inmunógeno es hasta cierto punto proporcional al peso molecular. Aunque influyen otros factores, que se analizarán a continuación, los antígenos más fuertes son los de mayor peso molecular, como las hemocianinas (PM, 6.500.000), entre las proteínas, o los polisacáridos capsulares de neumococo (PM, 267.500).

Naturaleza química

Las *proteínas* constituyen la mayoría de los Ag naturales. Las macromoléculas de esta naturaleza son los inmunógenos más potentes que se conocen. Por otra parte, en los Ag conjugados, formados natural o artificialmente, las moléculas responsables de la inmunogenicidad del complejo suelen ser de naturaleza proteica.

Los *polipéptidos naturales* de bajo peso molecular no son inmunógenos (aunque pueden ser haptenos), y en el estudio de los *péptidos sintéticos* se ha demostrado que el poder inmunógeno sólo se manifiesta en los de elevado peso molecular y formados, por lo menos, por dos aminoácidos distintos.

Los *polisacáridos* presentan un poder inmunógeno muy variable, que depende en gran parte del organismo al que se inyectan. Los polisacáridos capsulares del neumococo, de elevado PM, son inmunógenos para el hombre y el ratón, pero no para el conejo. En muchos casos, los polisacáridos se comportan como haptenos y su poder inmunógeno depende de su asociación a proteínas, como ocurre en otros polisacáridos bacterianos y en las glicoproteínas que constituyen las sustancias específicas de los hematíes determinantes de los grupos sanguíneos ABO o Rh.

Los polímeros compuestos de un solo azúcar (como los dextranos, polímeros de la glucosa, o los levanos, polímeros de la fructosa) poseen poder inmunógeno, aunque sólo cuando tienen un peso molecular muy elevado.

Los *ácidos nucleicos* químicamente puros no tienen poder inmunógeno. Sin embargo, es conocido que en el curso de determinados procesos patológicos, como el lupus eritematoso sistémico (LES), aparecen anticuerpos frente al ADN. Dichos anticuerpos reaccionan con el ADN desnaturalizado,

monocatenario, y con el ADN nativo. Diversas experiencias han demostrado que el ADN se comporta como hapteno cuando se copula con proteínas, como la albúmina sérica bovina. En condiciones naturales, los ácidos nucleicos se presentan en forma de nucleoproteínas (ADN-proteínas, ribosomas), cuya fracción proteica es la responsable de la inmunogenicidad.

Algo parecido ocurre con los *lípidos* que no resultan antigénicos en estado puro. Sin embargo, se obtienen Ac antilípidos cuando éstos están asociados a proteínas en forma de lipoproteínas. Las macromoléculas que contienen lípidos son especialmente relevantes en las membranas celulares. Los más importantes compuestos que se comportan como haptenos lipídicos en condiciones naturales o artificiales se encuentran entre los fosfolípidos, glicoesfingolípidos y esteroides.

Otras propiedades de la molécula

Nos referiremos a otras propiedades en gran parte dependientes del peso molecular y la composición química.

Conformación. La conformación de la molécula influye en la inmunogenicidad. Tanto las moléculas lineales, como las ramificadas o globulares, pueden ser inmunógenas, y cualquier modificación en la conformación (p. ej., de la estructura terciaria de las proteínas) puede ocasionar no sólo una distinta especificidad de los anticuerpos formados, como veremos más adelante, sino también un aumento o disminución del poder inmunógeno. Modificaciones de la conformación pueden producirse espontáneamente en el seno de las células y tejidos por diversas causas, o artificialmente por desnaturalización, disociación de puentes disulfuro, introducción de nuevos radicales, etc.

Complejidad. Existe también una relación evidente entre la complejidad estructural de la molécula y la intensidad de la respuesta inmunitaria, que es mayor, en las proteínas, para las moléculas policatenarias y globulares que para las lineales. La diversidad de las subunidades, aminoácidos o monosacáridos, aumenta asimismo el poder inmunógeno.

Agregación. La agregación molecular es igualmente importante. La presentación monomérica o polimérica de las proteínas comporta importantes diferencias en la inmunogenicidad, que es siempre mayor con los agregados de proteínas. Incluso para una misma sustancia, por ejemplo, IgG, altamente inmunógena en forma agregada, su administración en forma monomérica puede inducir un estado de tolerancia.

Rigidez. Otro factor que influye considerablemente es la rigidez de la molécula, como se demostró de forma concluyente en el estudio de la inmunogenicidad de la gelatina. Esta proteína, a pesar de tener un alto peso molecular, es un inmunógeno muy débil. La adición de radicales de tirosina aumenta la capacidad de producción de anticuerpos como consecuencia de la mayor rigidez de esta nueva molécula. De forma general, la introducción de radicales aromáticos incrementa el poder inmunógeno de las proteínas.

Accesibilidad. La accesibilidad influye en un doble sentido. Por un lado, en los antígenos complejos como bacterias o células, las moléculas situadas superficialmente tienen mayor facilidad para ponerse en contacto con el sistema linfoide, de ahí que las proteínas de los flagelos o las sustancias capsulares bacterianas, o las glicoproteínas de las membranas celulares, resulten más inmunógenas que las estructuras citoplásmicas, con independencia de otras características que puedan concurrir en las moléculas consideradas.

Por otro lado, en el seno de un antígeno soluble, la situación de determinados radicales y, en consecuencia, su exposición al ambiente acuoso constituyen un factor capital en la inmunogenicidad. En experimentos con polipéptidos ramificados sintéticos se han demostrado diferencias manifiestas según la situación de ciertos radicales en los extremos de las cadenas laterales o en su interior, en definitiva según su accesibilidad. Las diferencias observadas se refieren tanto a la capacidad o incapacidad de desencadenar una respuesta como a la especificidad de los Ac provocados, en su caso. La accesibilidad es un factor decisivo en la inmunopotencia de determinadas estructuras.

Carga. La carga eléctrica de las moléculas tiene también su influencia. Aunque moléculas sin carga, como los dextranos, pueden ser inmunógenas, todo indica que la existencia de cargas positivas o negativas favorece la inmunogenicidad, probablemente a través de la hidrofilia que representan los grupos cargados que facilitan la accesibilidad.

Degradabilidad. La posibilidad de que el antígeno sea fagocitado y degradado por el huésped es, por último, otra característica de la molécula que influye en su poder inmunógeno. Los heteropolímeros de L-aminoácidos, que son degradables, resultan inmunógenos; en cambio, los de D-aminoácidos, que no se catabolizan, se muestran habitualmente como no inmunógenos. Por el contrario, entre los polisacáridos, las sustancias capsulares del neumococo son difícilmente degradables por el ratón y, sin embargo, son altamente inmunógenas. Esta aparente contradicción se debe a que la degradabilidad de los antígenos, como factor de la inmunogenicidad, está relacionada con otro factor, la dosis, que se estudiará al considerar el modo de administración de los antígenos. El poder inmunógeno de los Ag degradables es independiente de la dosis y el de los no degradables, altamente dependiente de ella; en éstos sólo se consigue la respuesta con una dosificación muy estricta.

Factores relativos al huésped

Constitución genética. La inmunogenicidad depende de la existencia de genes de reconocimiento para el antígeno en el animal inyectado, es decir, de la constitución genética del huésped.

Desde hace mucho tiempo se sabe que determinados antígenos se comportan como inmunógenos para algunas especies y no para otras. Por ejemplo, el polisacárido capsular del neumococo puro es inmunógeno para el hombre y el ratón, pero no para el conejo. Sin embargo, el conejo también produce Ac frente a este Ag, como consecuencia de la inmunización con una suspensión de neumococos completos.

La capacidad de respuesta varía no sólo entre especies diferentes, como en el caso citado, sino entre individuos de una misma especie genéticamente distintos. Este hecho fue empíricamente comprobado desde las primeras experien-

cias de inmunización de animales de laboratorio con toxoides bacterianos para la obtención de las correspondientes antitoxinas. Los animales (conejos, cobayos, ratones) de razas no puras reaccionan desigualmente a la inmunización por Ag muy diversos, sin que tal circunstancia pueda atribuirse a la forma de inmunización, lo que permite la distinción entre individuos buenos y malos productores de Ac (buenos y malos «respondedores»). En la fabricación de antisueros, en la que el animal preferido por su capacidad de respuesta a un amplio número de Ag suele ser el conejo, este hecho debe tenerse en cuenta, puesto que es previsible que algunos de los animales de un lote respondan pobremente a la estimulación antigénica.

Por entrecruzamiento selectivo de los animales buenos respondedores entre sí se obtienen, tras varias generaciones, cepas con una capacidad de respuesta uniforme; igual sucede si la experiencia se realiza con animales malos respondedores. Así, se han obtenido líneas de cobayos buenas y malas productoras de Ac frente al toxoide diftérico. La selección genética en los animales de laboratorio ha facilitado el estudio de los genes de reconocimiento para determinados Ag. Los polímeros de L-lisina son inmunógenos para los cobayos de la cepa 2, pero no para los de la cepa 13. Con experiencias de este tipo se ha llegado a la comprobación de que la capacidad de respuesta a un determinado Ag se hereda de forma autosómica dominante. Los genes que controlan la respuesta inmunitaria, denominados genes Ir, están estrechamente asociados al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). El determinismo genético se refiere tanto a la presencia o ausencia de respuesta como a su intensidad y al tipo de respuesta producido.

Edad, estado nutritivo e inmunodeficiencia. Además de la constitución genética, otros factores relativos al huésped influyen en la inmunogenicidad. Destacan entre ellos la edad, el estado nutritivo y las situaciones de inmunodeficiencia primaria o secundaria, que se consideran en otro lugar (cap. 17).

Factores relativos a la administración del Ag

La intensidad y modalidad de la respuesta inmunitaria a un determinado antígeno dependen de una serie de circunstancias relativas a su administración, que afectan por igual el proceso de *inmunización* que ocurre espontáneamente en condiciones naturales o el que se provoca experimentalmente en el animal, aunque, por supuesto, se conocen mejor en este último caso. Tienen especial importancia la vía de administración, la dosis, el número de inyecciones y su intervalo, y la forma en que el Ag es administrado.

Vía de administración. Los Ag pueden penetrar en el organismo a través de la piel y las mucosas, pero en su mayoría sufren una alteración profunda a través de su paso digestivo, que les hace perder su poder inmunógeno, lo cual es particularmente importante para las proteínas que son muy sensibles a los sistemas enzimáticos; por ello, normalmente los Ag no se comportan como tales tras su ingestión. En cambio, la administración por vía parenteral coloca los antígenos en contacto con el sistema inmunológico sin alteración previa y facilita la respuesta inmunitaria.

El tipo de respuesta y los órganos linfoides principalmente implicados dependen en gran manera de la vía. Tras la administración intravenosa, la respuesta suele ser humoral y el bazo es el órgano principal productor de los Ac. La respuesta es también predominantemente humoral por otras vías que conducen el antígeno a los espacios vasculares, pero, tras la inyección subcutánea o intramuscular, los órganos primariamente implicados son los ganglios linfáticos regionales. El tipo de anticuerpos producidos en la respuesta también puede depender de la vía; así, las vías que hemos citado conducen en general a la aparición de IgG, mientras que la penetración por la mucosa respiratoria induce la secreción local de IgA. Por último, algunas vías, como la intradérmica o la cutánea, tienden a inducir preferentemente una respuesta de base celular.

Dosis. La cantidad inyectada es extremadamente importante y se relaciona con el tipo de antígeno y la especie animal. Algunos Ag presentan un poder inmunógeno independiente de la dosis y, en cierto modo, proporcional a ella; es decir, con ellos se obtiene una respuesta con cantidades que pueden oscilar entre márgenes muy amplios, desde mínimas a relativamente notables. Siempre existe, no obstante, un límite inferior, a partir del cual no puede detectarse respuesta, y un límite superior, a partir del cual no se incrementa la intensidad de la respuesta. Otros antígenos son marcadamente dosis-dependientes (ya se mencionaron al considerar la degradabilidad). El polisacárido capsular del neumococo es el ejemplo mejor estudiado; una dosis de 0,001 mg provoca una excelente respuesta en el ratón, mientras 0,5 mg no sólo no provocan la aparición de Ac, sino que inducen una situación denominada *parálisis serológica.*

Número e intervalo entre las dosis. Tras una primera administración del Ag, los Ac formados son fundamentalmente IgM y su título es bajo; tras la segunda, los Ac son predominantemente IgG y su título es mucho más alto. Si se desea obtener un antisuero de alto título, se requiere la administración de una serie de inyecciones separadas entre sí por intervalos adecuados. Para cada sistema Ag/huésped deben establecerse experimentalmente las condiciones idóneas de número de dosis y tiempo entre éstas.

Forma de administración. Adyuvantes. La respuesta a un Ag determinado es diferente según su presentación. Por ejemplo, la administración de albúmina sérica precipitada con alúmina desencadena una respuesta mucho mayor que si se aplica en forma soluble. Esto lleva a considerar el concepto de adyuvante. Se denominan adyuvantes los productos o preparaciones que incrementan el poder inmunógeno de un Ag, al modificar sus características físicas o, simplemente, al inyectarse junto con él. El incremento de la inmunogenicidad de un Ag determinado por un adyuvante es una situación particular de un fenómeno mucho más amplio, la inmunopotenciación. Los adyuvantes más utilizados pertenecen a una de las siguientes categorías: *a)* sustancias que proporcionan una insolubilización del Ag (p. ej., precipitación con sales de aluminio, absorción sobre partículas inertes como la bentonita, etc.); *b)* sustancias que facilitan un depósito largo tiempo mantenido en los tejidos (p. ej., una mezcla oleoacuosa de sales minerales, como el adyuvante de Freund, al que se pueden añadir micobacterias), y *c)* lipopolisacáridos de endotoxinas de bacterias gramnegativas (enterobacterias, *Bordetella pertussis*) y grampositivas (*Corynebacterium parvum*).

El modo de acción de los adyuvantes no está completamente aclarado, pero intervienen, sin duda, los siguientes mecanismos: la insolubilización evita la rápida degradación biológica y prolonga el estímulo; se aumenta el área de la superficie antigénica; el depósito libera de forma prolongada el inmunógeno y crea un granuloma con aflujo y proliferación de células inmunocompetentes; ciertos adyuvantes o algunos de sus componentes tienen una actividad mitógena y pueden incrementar selectivamente las poblaciones linfocitarias B y T.

Los adyuvantes incrementan la producción de Ac, pero también pueden influir sobre la respuesta de base celular. Por ejemplo, con el adyuvante incompleto de Freund aumenta ampliamente la respuesta humoral, pero, cuando se añaden micobacterias (adyuvante completo), se desencadena, además, una importante respuesta celular; cuando el Ag es tisular, por ejemplo, tejido nervioso, pueden presentarse fenómenos de autoinmunidad. Por estos motivos, la utilización del adyuvante de Freund está formalmente contraindicada en el hombre.

ANTIGENICIDAD

Los Ac sólo reaccionan con el Ag que los produjo o con Ag muy relacionados. Esta especificidad antigénica o antigenicidad es, sin duda, la característica más sobresaliente de los Ag. En la respuesta celular, la especificidad parece igualmente precisa pero los conocimientos existentes son mucho menores, por lo que a continuación se hará referencia fundamentalmente a la respuesta humoral.

Determinantes antigénicos. La antigenicidad deriva de la existencia de los determinantes antigénicos o epítopes ya definidos, que podrán unirse a las zonas combinantes de Ac, que necesariamente deberán ser complementarias de aquéllos. El estudio de la antigenicidad está condicionado por la especificidad de la reacción Ag/Ac utilizada, puesto que en este sentido las diferentes reacciones no son igualmente válidas. La reacción de precipitación, en medio líquido y sólido, es particularmente útil y las reacciones de inhibición resultan inestimables en este campo.

Algunos de los caracteres relativos a la antigenicidad ya se han considerado anteriormente. Se expone a continuación lo relativo a número, tamaño y composición de los determinantes y factores que intervienen en ellos.

Número. Es sumamente raro que una molécula antigénica posea un solo grupo determinante; lo frecuente es que su número sea múltiple. Si los diversos grupos determinantes son idénticos, el Ag presenta una sola especificidad. Pero las moléculas de elevada complejidad presentan normalmente varios determinantes distintos, lo que comporta que el antisuero obtenido tras su inyección contendrá una mezcla de anticuerpos de distinta especificidad, dirigidos contra los determinantes correspondientes. Por consiguiente, los Ac obtenidos frente Ag macromoleculares son normalmente heterogéneos.

Valencia. Se denomina valencia del antígeno el número de moléculas iguales de Ac con las que puede combinarse. En teoría será igual a la cifra de sus grupos determinantes idénticos, pero esto no siempre es así, porque, cuando dos determinantes estén muy próximos en el espacio, la ocupación de uno de ellos por una molécula Ac impedirá la accesibilidad de otra molécula al grupo determinante vecino (dificultad espacial o inhibición estérica). La valencia de los Ag naturales es siempre múltiple y está en relación con el peso molecular; así, para la ovoalbúmina es de 5 y para la hemocianina, de 75; estas cifras, por el motivo antes expuesto, son mínimas.

Tamaño y composición. El tamaño de los determinantes antigénicos fue estudiado primero en los Ag polisacáridos. En ellos, los determinantes están formados por 6 residuos monosacáridos. Tal precisión se obtuvo inicialmente en el análisis del sistema dextrano-Ac antidextrano. Utilizando series de oligosacáridos, de 4, 5, 6, 7, etc. residuos de glucosa, se estudió la inhibición que cada uno de ellos producía en la reacción, y se observó con el hexasacárido la inhibición máxima, sin que el heptasacárido aumentara la energía de unión con el Ac antidextrano. En experiencias con polisacáridos más complejos, pero siempre bien definidos, se ha confirmado que los determinantes antigénicos están formados generalmente por un oligosacárido de 6 azúcares, y contribuyen a ellos la naturaleza de los monosacáridos, su presentación en forma D o L, la forma de unión entre ellos y el tipo α o β de los enlaces glicosídicos. En la mayoría de los casos puede demostrarse la presencia de un monosacárido, que por una situación espacial privilegiada interviene en mayor proporción que los contiguos en la configuración del grupo determinante; es el azúcar inmunodominante.

En los antígenos proteicos y polipeptídicos, los determinantes antigénicos están formados por 4 a 6 residuos aminoácidos, como ha podido demostrarse con el estudio de proteínas conjugadas a péptidos de estructura conocida y de polipéptidos sintéticos. En todos los casos, los haptenos tetra, penta o hexapéptidos producen la inhibición máxima de la reacción de precipitación entre el Ag completo y su antisuero. Contribuyen a la especificidad la naturaleza de los radicales y su configuración óptica; los D-aminoácidos, que son débilmente inmunógenos, sirven eficazmente a la constitución del determinante y muestran una clara inmunodominancia dentro de él.

Determinantes secuenciales y conformacionales. Los determinantes compuestos por los radicales que se alinean en la secuencia de una cadena polisacárida o proteica se denominan determinantes secuenciales; son frecuentes en los polisacáridos lineales o ramificados y algunos polipéptidos sintéticos y proteínas fibrillares. Las porciones terminales de las cadenas presentan una gran accesibilidad al medio acuoso, lo que les confiere una marcada inmunopotencia, es decir, capacidad para constituir el grupo determinante. En tal situación, el radical situado en el extremo es la subunidad inmunodominante. La inmunodominancia disminuye de forma progresiva en los radicales contiguos de fuera a dentro.

En las macromoléculas más complejas, los determinantes suelen ser conformacionales. Así, en las proteínas globulares, los residuos implicados en el determinante pueden pertenecer a una cadena o varias, al resultar contiguos como consecuencia de la estructura secundaria, terciaria o cuaternaria. Esta conformación es la que determina las porciones más prominentes y accesibles.

ANTIGENOS NATURALES

Los antígenos están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Los tejidos y células de los animales y plantas, los protozoos, los hongos, las bacterias y los virus poseen una composición antigénica determinada, consecuencia de su composición y estructura química. Destaquemos ante todo que cualquier célula, una simple partícula vírica e incluso un líquido orgánico como el suero están constituidos por gran número de moléculas, muchas de ellas antigénicas, que constituyen un variado mosaico. El carácter antigénico de estas moléculas no depende sólo de su naturaleza química, sino también de su situación en los complejos corpusculares (células, bacterias, virus). Las superficiales resultan más accesibles a los sistemas inmunitarios y, por consiguiente, expresan más fácilmente su poder inmunógeno y reaccionan mejor, por el mismo motivo, con los anticuerpos formados. Las moléculas de situación más interna no pueden expresar su inmunogenicidad más que con ocasión de la lisis de la célula o bacteria en cuestión.

Antígenos de las células y tejidos

En un organismo animal existen gran número de Ag solubles en los humores y corpusculares en las diferentes estructuras celulares. Su *distribución* es muy variable, y de acuerdo con ella podemos distinguir:

1. *Antígenos heterogenéticos.* Se denominan así sustancias antigénicas presentes en organismos no relacionados. Uno de los mejor estudiados es el antígeno de Forssman, de naturaleza poliósida, que se encuentra en los glóbulos rojos de diferentes especies animales (carnero, cobayo, caballo, pollo, humanos de los grupos A y B), en muchos vegetales y en determinadas bacterias (salmonelas, shigelas, neumococos). Las especies que no poseen el Ag heterogenético (Forssman negativas) son capaces de desarrollar anticuerpos frente a él, pero no así las que lo poseen. Otros Ag del mismo tipo son las sustancias responsables de los grupos sanguíneos del sistema ABO. Dichos Ag están presentes también en diversas bacterias, lo que puede explicar la aparición de anticuerpos como consecuencia de la colonización por la flora normal tras el nacimiento (p. ej., aglutininas anti-A en un sujeto del grupo B).

Los Ag heterogenéticos son en realidad sustancias distintas relacionadas entre sí por la presencia de un hapteno común.

2. *Antígenos específicos de especie.* Las proteínas de una determinada especie son distintas de las existentes en otra, y determinados Ag pueden reconocerse en todos los individuos de la misma especie. Entre las proteínas de especies diferentes existen diferencias antigénicas que son tanto más acentuadas cuanto más alejadas se encuentran en la escala zoológica.

3. *Antígenos específicos de órgano o tejido.* Las proteínas de un determinado órgano o tejido son diferentes de las de otro del mismo individuo. Esta especificidad de órgano sólo puede demostrarse por finas técnicas inmunológicas, dadas las reacciones cruzadas existentes entre los Ag de los diversos órganos. Por otra parte, se ha demostrado que los Ag de un órgano de una especie animal están relacionados con los existentes en el mismo órgano de otras especies, constituyendo Ag o haptenos heterogenéticos.

A pesar del considerable esfuerzo de investigación realizado en los últimos años, la constitución antigénica de las células y humores, en especial referida al ser humano, es imperfectamente conocida en el momento actual. Por razones de orden práctico, se ha profundizado particularmente en el estudio de los Ag asociados a las proteínas plasmáticas, los Ag eritrocitarios y los Ag de la histocompatibilidad. En estos tres campos se dispone ya de abundante información sobre la naturaleza de los Ag, su distribución y su determinismo genético.

Las *proteínas plasmáticas*, al ser Ag solubles, resultan más asequibles al estudio antigénico que los Ag asociados a estructuras celulares. Por inmunoelectroforesis se han identificado más de 30 componentes antigénicos distintos en el plasma humano, entre los que destacan las cinco clases de inmunoglobulinas y otras proteínas de gran importancia biológica. En ellas se han demostrado diversos aloantígenos, como son los alotipos de las inmunoglobulinas y de algunas lipoproteínas.

El conocimiento de los Ag *eritrocitarios* interesa fundamentalmente por las consecuencias transfusionales que comportan. Desde el descubrimiento por Landsteiner, en 1900, de la existencia de los grupos sanguíneos del sistema ABO, se han descrito más de un centenar de aloantígenos, pertenecientes a diversos sistemas, que permiten la subdivisión de los hematíes humanos en diversos grupos mayores y en grupos particulares, que afectan únicamente a pocos individuos. La mayoría de estos Ag son estructuras presentes en la membrana del hematíe, que se encuentran también en otras células y en los líquidos orgánicos, y pueden entonces intervenir como Ag de histocompatibilidad. En otros casos, como los Ag del sistema Lewis, se trata de Ag hidrosolubles presentes también en el plasma y fijados a los hematíes.

Los Ag del sistema ABO siguen siendo los más importantes y su consideración es absolutamente necesaria en las transfusiones. Se localizan en la membrana de los hematíes y son de naturaleza lipopoliósida (haptenos); también están presentes en abundancia en las secreciones, tales como la saliva y el jugo gástrico, y presentan entonces una estructura mucopoliósida. En ambas localizaciones, la porción poliósida, que es idéntica, es la responsable de la especificidad. Los sujetos del grupo A presentan los Ag A y H; los del grupo B, los B y H; los del AB, los A, B y H, y los del O, solamente el H. Estos tres Ag tienen una estructura muy similar, que difiere únicamente en el último componente del oligósido terminal que constituye el grupo determinante (fig. 18-3). La especificidad H tiene una secuencia terminal N-acetil-D-galactosamina, D-galactosa y L-fucosa, que es común a los Ag A y B. La unión a la D-galactosa de una N-acetil-D-galactosa o de otra D-galactosa proporciona, respectivamente, las especificidades A y B, cuya diferencia, por consiguiente, estriba sólo en un grupo N acetilo.

Antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad

En las membranas de las células nucleadas se localizan múltiples moléculas antigénicas, entre las que destacan por su importancia los aloantígenos codificados por el sistema genético denominado *complejo mayor de histocompatibilidad* (CMH). Este sistema se ha demostrado en prácticamente todos los mamíferos y estudiado con gran detalle en el

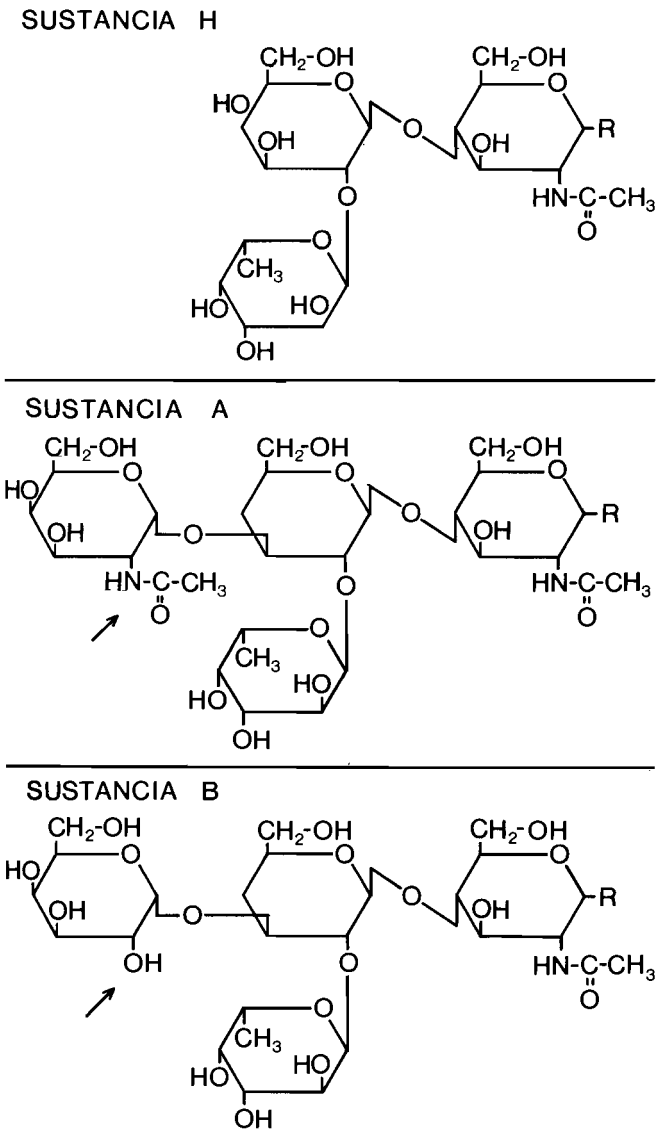


Fig. 18-3. Secuencia terminal de los Ag H, A y B de los eritrocitos.

ratón, donde recibe el nombre de sistema *H-2;* en el hombre, su equivalente se conoce como sistema *HLA (human leucocyte antigens).* La expresión CMH obedece a que sus productos son los responsables de la reacción inmunitaria del injerto (Ag de histocompatibilidad o de trasplante). Sin embargo, el rechazo de injertos es una consecuencia, pero no la función biológica del CMH, cuya finalidad es la regulación genética de la respuesta inmunitaria; sus moléculas constituyen los elementos imprescindibles para la detección de las sustancias extrañas y el reconocimiento entre las células que intervienen y cooperan en la respuesta.

Los Ag del CMH están presentes en prácticamente todos los órganos y tejidos, si bien su cuantía no es homogénea. La excepción más importante son los hematíes maduros no nucleados, en los cuales no se detectan con los métodos actuales. Están presentes en considerable cantidad en los leucocitos y plaquetas, donde se estudian habitualmente. Estos Ag están constantemente eluyéndose de la superficie de las células y resintetizándose, lo que explica su ausencia en los eritrocitos.

Los mecanismos humorales reconocen algunos de los Ag del CMH, que, por este motivo, se denominan «serológicamente definidos» (SD). Se estudian en los linfocitos periféricos, enfrentándolos a antisueros que contengan Ac frente a cada uno de los Ag. En el hombre, estos antisueros se seleccionan de sujetos politransfundidos o mujeres multíparas. Los Ac frente a los Ag del CMH, en presencia de complemento, ejercen una acción citotóxica sobre los linfocitos.

La respuesta celular detecta, además, otros Ag denominados «definidos por linfocitos» (LD). Se estudian mediante el cultivo mixto de linfocitos, que muestra estimulación linfocitaria si existen diferencias en sus Ag del CMH.

De acuerdo con su estructura, los Ag del CMH se han clasificado en tres clases, aunque se sugiere que deben existir otras modalidades estructurales. Cada una de las clases presenta funciones diferentes.

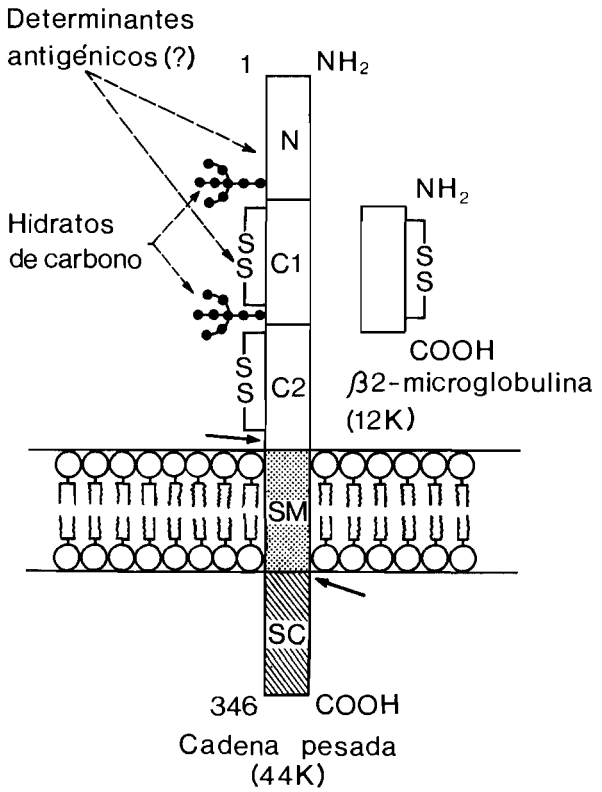
Las moléculas de *clase I* (fig. 18-4 A) están formadas por una cadena polipeptídica de 44 K, a la que está unida por enlaces no covalentes un pequeño péptido denominado β_2-microglobulina. Este péptido está codificado por un cromosoma distinto al que alberga el CMH. La cadena pesada está inserta en la membrana celular y presenta tres segmentos funcionales: extracelular, intramembranoso e intracitoplasmático. El segmento extracelular, en el que se sitúan los determinantes aloantigénicos, presenta tres dominios, y se ha observado cierta homología entre sus secuencias, la de la β_2-microglobulina y la de los dominios de las cadenas pesadas de las Ig (v. cap. 19), lo que sugiere un parentesco evolutivo. Los productos de clase I constituyen los más fuertes y clásicos Ag de histocompatibilidad, que guían las células T citotóxicas en el rechazo de injertos, infecciones víricas, etc. Pertenecen a la clase I los Ag H-2 K, D y L del ratón y los HLA-A, B y C del hombre.

Las moléculas de *clase II* (fig. 18-4 B) están formadas por dos cadenas polipeptídicas, una de 32 K denominada α y otra de 28 K denominada β. Ambas atraviesan la membrana plasmática y están firmemente unidas de forma no covalente. Los conocimientos sobre su secuencia, conformación y determinantes aloantigénicos son aún incompletos. Las moléculas de clase II, como los Ag Ia del ratón y HLA-DR humanos, son los elementos de reconocimiento entre las células que intervienen en la respuesta inmunitaria.

Las moléculas de *clase III,* no localizadas en la superficie celular, proceden de genes agrupados que informan moléculas precursoras, que por hidrólisis sucesivas generan algunos componentes del complemento.

El CMH es un conjunto de genes asociados que muestran un extraordinario polimorfismo, con múltiples alelos para la mayoría de ellos; cada uno de los alelos determina una forma estructuralmente diferente de la molécula antigénica que codifican.

El *sistema H-2* del ratón se localiza en el cromosoma 17 (fig. 18-5). En él se distinguen los *loci* y regiones K, I, S, D y L. Los productos de los *loci K, D y L* constituyen los Ag del trasplante que condicionan fundamentalmente su rechazo. En la *región I* se han identificado diversos *loci,* sin que su número, orden y productos puedan considerarse definitivamente establecidos. Los genes de la *región I* pueden clasificarse funcionalmente en dos categorías Ia e Ir. Los *genes Ia* codifican Ag presentes sobre todo en la superficie de los linfocitos B y también en subpoblaciones T y macrófagos, pero no en otras células del organismo; su misión es el reconocimiento intercelular necesario para la cooperación



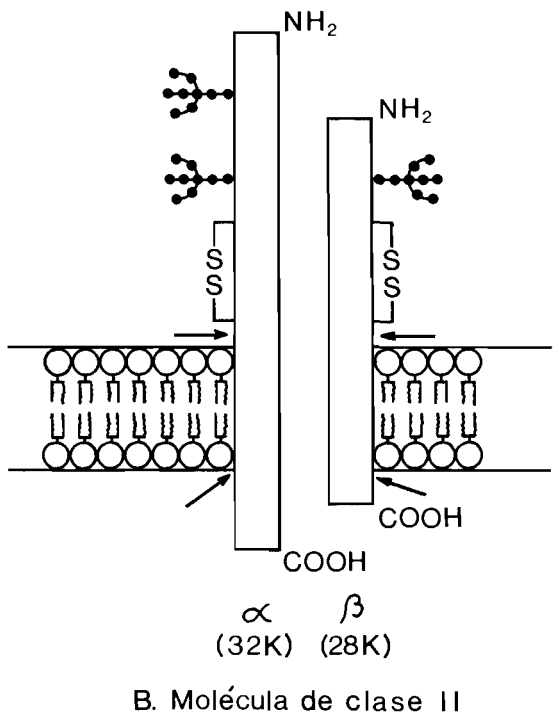


Fig. 18-4. Representación esquemática de las moléculas de clase I y II del CMH. Las flechas de trazo continuo indican los lugares de actuación de la papaína. En la molécula de clase I, N, C_1 y C_2 son los dominios del segmento extracelular; SM, el dominio transmembranoso, y SC, el dominio citoplasmático.

B-T, T-T y T-macrófagos. Los *genes Ir* determinan la capacidad de respuesta inmunitaria a los diferentes Ag y regulan su calidad e intensidad.

La *región S* del sistema codifica el componente C_4 del complemento y una proteína sérica relacionada.

En la proximidad del sistema H-2 se localizan algunos *loci*, que codifican diversas enzimas, y una región, cuyas moléculas constituyen marcadores de diferenciación de las células linfoides tímicas (región Qa-Tla). Esta región, que para muchos autores debería incluirse dentro del CMH, merece actualmente gran interés.

El sistema *HLA* del hombre está situado en el brazo corto del cromosoma 6 (fig. 18-5). Dotado de extraordinario polimorfismo, en él se han identificado los *loci* HLA-A, B y C, la región HLA-D/DR y una región que codifica componentes del complemento.

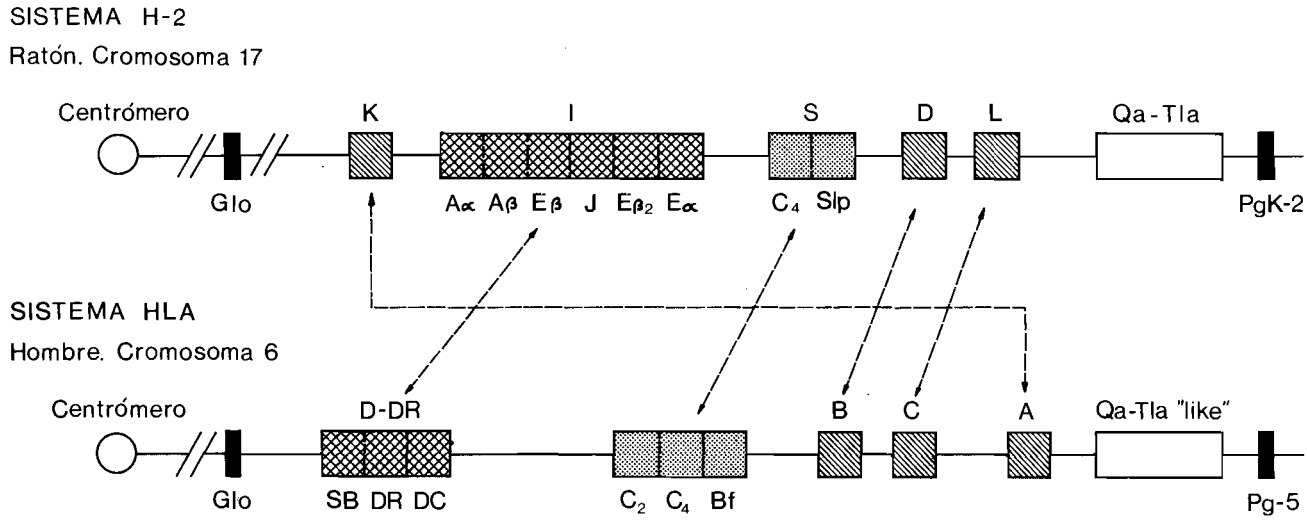


Fig. 18-5. Representación esquemática de los sistemas H-2 y HLA. Las líneas de trazos indican las homologías entre ambos sistemas. ▨ *Loci* de moléculas de clase I. ▩ *Loci* de moléculas de clase II. ▭ *Loci* de moléculas de clase III. Glo: glioxalasa eritrocitaria. PgK-2 y Pg-5: pepsinógeno.

Los *loci HLA-A, B y C* determinan los Ag de histocompatibilidad clásicos pertenecientes a la clase I. Estos tres *loci* están estrechamente asociados, y no es posible asegurar que cada Ac monoespecífico detecte únicamente un solo Ag codificado por un alelo distinto en cada *locus*. Actualmente se conocen 20 especificidades antigénicas en el *locus* A, 42 en el *locus* B y 8 en el *locus* C, que se identifican con un número detrás del *locus* correspondiente, incluida una w para especificidades aceptadas no oficialmente (p. ej., HLA-Al, HLA-Bw4, HLA-Cwl).

El *locus HLA-D* se determinó por el cultivo mixto de linfocitos y se han definido 12 alelos. Relacionados con este *locus* HLA-D se han identificado 10 alelos *DR* que especifican moléculas de clase II presentes preferentemente en los linfocitos B y macrófagos, y que se han definido serológicamente utilizando antisueros absorbidos con plaquetas para eliminar los Ag HLA-A, B y C. No se ha precisado el número de *loci* de esta región *HLA-D/DR*, que contiene por lo menos 3 (fig. 18-5). Los Ag HLA-DR parecen ser análogos a los Ag Ia murinos, y se supone que esta región interviene en la regulación de la respuesta (Ag Ir).

Una región homóloga de la S del sistema H-2 murino codifica componentes del complemento que participan tanto en la activación clásica, C_2, C_4, como en la vía alternativa, B (v. cap. 21).

El sistema HLA tiene en su proximidad una región semejante a la Qa-Tla y está enmarcado entre *loci* que determinan enzimas y antígenos eritrocitarios.

La *herencia* del sistema HLA es autosómica, monofactorial y dominante según las leyes mendelianas. El haplotipo HLA, conjunto de genes del sistema perteneciente al mismo cromosoma, se transmite en bloque, generalmente sin procesos de recombinación. Las especificidades HLA de un individuo están determinadas por sus dos haplotipos, el paterno y el materno, y por ello el 25 % de los descendientes tendrán el mismo sistema HLA, 25 % diferirán en sus dos haplotipos y el 50 % coincidirán en un haplotipo.

En los diversos alelos del sistema HLA se produce con frecuencia un fenómeno conocido como *desequilibrio de asociación*, que consiste en que dos alelos aparecen asociados en un haplotipo con frecuencia significativamente mayor de la esperada al azar. Este desequilibrio se observa al estudiar los haplotipos en la población, entre diversos alelos de los *loci* A y B, B y C, y B y D.

La importancia biológica del sistema HLA es extraordinaria: en primer lugar, por su intervención en la regulación de la respuesta inmunitaria. El reconocimiento del CMH, en las células que procesan y presentan el Ag, es necesario para la respuesta de las células T (restricción por el CMH). Por otra parte, el sistema permite el reconocimiento intercelular y con ello hace posible la cooperación celular, controla la estimulación y supresión de la respuesta, y está en relación con el sistema complemento y los genes reguladores de importantes sistemas enzimáticos eritrocitarios y leucocitarios.

El no reconocimiento de los Ag de las células de un injerto por el sistema HLA del receptor desencadena los fenómenos de cooperación celular que conducen al rechazo. Aunque otros Ag como los del sistema ABO eritrocitario también intervienen, la máxima identidad entre los Ag HLA del donante y el receptor es necesaria para la aceptación del trasplante, lo que obliga al correspondiente tipado de estos Ag.

Por último, existe una clara asociación entre la presencia de determinados Ag HLA y ciertas enfermedades, lo que tiene valor diagnóstico (p. ej., HLA-B27 y espondilitis anquilosante), explica la génesis de ciertas enfermedades autoinmunes (p. ej., en los portadores de HLA-DR3, alelo deficiente del gen DR que interviene en la inmunosupresión) y sirve como marcador genético en algunas enfermedades hereditarias.

Antígenos bacterianos

Los anticuerpos que aparecen en el suero tras la inyección de bacterias íntegras, o en el curso de la infección, aglutinan la bacteria entera y precipitan diversos Ag superficiales de ésta. Estos anticuerpos no son necesariamente protectores y de ordinario su título no guarda relación con el grado de protección conferido por esa respuesta inmunitaria. Sin embargo, el estudio de estos Ag y sus correspondientes anticuerpos tiene gran valor en el diagnóstico. Sólo en muy pocos casos se conoce la naturaleza de los Ag protectores, es decir, aquellos que despiertan la producción de anticuerpos responsables de la inmunidad adquirida antiinfecciosa.

Todas las estructuras bacterianas poseen Ag *constitutivos*, cuyo poder inmunógeno es mayor en los superficiales por su mejor accesibilidad al sistema inmunológico. De ahí que debamos estudiar preferentemente los Ag de la pared o somáticos, los capsulares y los flagelares. Pero, además, las bacterias tienen la propiedad de secretar diversas sustancias, en particular exotoxinas y exofermentos de elevado poder inmunógeno; estos Ag *secretados* son especialmente importantes, porque están dotados de determinadas propiedades biológicas, actividad tóxica o enzimática, y los anticuerpos que suscitan neutralizan específicamente dichas propiedades; son los Ag protectores mejor conocidos.

Los antígenos bacterianos, al igual que los antígenos celulares, presentan distinto grado de especificidad y distribución. Algunos son *heterogenéticos*, como los ya citados de Forssman, y A, B y H de los hematíes humanos, que pueden encontrarse en diversas bacterias y en múltiples células y tejidos. Del mismo tipo es el hapteno de Wassermann, sustancia presente en el *Treponema pallidum* y en diversos tejidos. Otros Ag heterogenéticos se encuentran únicamente en el mundo bacteriano, pero distribuidos en varios géneros y familias; su importancia radica en que explican la existencia de reacciones serológicas cruzadas entre diferentes géneros (p. ej., entre *Brucella, Vibrio* y *Yersinia*), circunstancia que debe conocerse para evitar errores de interpretación diagnóstica. En algún caso, la existencia de estos Ag comunes a varias familias resulta muy útil para el diagnóstico; así, en el curso del tifus exantemático, producido por *Rickettsia prowazeki*, aparecen anticuerpos frente a *Proteus* OX19, dada la existencia de un Ag heterogenético común, y la aglutinación de esta última bacteria permite la hipótesis diagnóstica de tifus exantemático.

Algunos Ag bacterianos son *grupoespecíficos* y se encuentran en todas las bacterias de un grupo o género, mientras otros son *tipoespecíficos* y se presentan sólo en algunas bacterias del género. El estudio de estos Ag permite clasificar las bacterias en grupos y tipos serológicos.

La constitución química de las bacterias grampositivas y gramnegativas es distinta y, consecuentemente, también lo

es la composición antigénica. Las bacterias acidorresistentes y las espiroquetas poseen características antigénicas especiales.

Antígenos de las bacterias grampositivas

Los Ag flagelares, en las especies que los poseen, tienen escasa importancia. En cambio, son muy importantes los Ag capsulares, cuya presencia representa una protección contra la fagocitosis. Con excepción de *Bacillus anthracis*, cuya cápsula es de naturaleza polipeptídica, las bacterias grampositivas dotadas de cápsula presentan en ella Ag de naturaleza poliósida, algunos formados por polímeros de elevado peso molecular, que son específicos de tipo y se comportan como Ag completos (neumococo).

La pared celular es un variado mosaico antigénico en el que el peptidoglicano interviene únicamente como adyuvante, reforzando el poder inmunógeno de otras macromoléculas ligadas a él. Se trata, sobre todo, de Ag proteicos y poliósidos.

Las proteínas son tipoespecíficas; así pues, la existencia de diversas proteínas M en el grupo A de los estreptococos permite subdividirlo en más de 50 tipos; la proteína M desempeña un importante papel en la virulencia de los estreptococos. Los poliósidos parietales se comportan en general como haptenos y su especificidad es bastante amplia; en los estreptococos son grupoespecíficos y la existencia de poliósidos distintos A, B, C, etc. permite la definición de otros tantos grupos. Los neumococos, en cambio, poseen un poliósido C, que es común a todo el género.

Numerosas bacterias grampositivas (*C. diphteriae, C. tetani, C. botulinum*) sintetizan exotoxinas responsables de la enfermedad experimental y natural. Dichas exotoxinas se convierten por diversos tratamientos en toxoides, que conservan su elevado poder inmunógeno, han perdido su capacidad tóxica y se usan en la vacunación contra las enfermedades producidas por estos microorganismos.

Finalmente, los estreptococos, estafilococos y otras bacterias grampositivas secretan exofermentos, como hemolisinas, hialuronidasas, dornasas, etc., que intervienen en la virulencia. Al ser altamente inmunógenos, suscitan en el sujeto enfermo anticuerpos neutralizantes de su actividad biológica, cuya determinación es de gran valor diagnóstico; así, en las infecciones estreptocócicas se estudia el título de antiestreptolisinas.

Antígenos de las bacterias gramnegativas

Los flagelos están constituidos por proteínas fibrosas altamente antigénicas, que constituyen los Ag *flagelares* o H. Dichos Ag presentan normalmente una sola especificidad, que es distinta de unos tipos a otros dentro del mismo género. Sin embargo, los Ag H de algunas salmonelas pueden presentarse bajo dos especificidades diferentes, que corresponden a dos conformaciones moleculares distintas de estas proteínas; la salmonela se llama entonces difásica.

Las bacterias gramnegativas poseen Ag *superficiales*, exteriores a la pared, bien sean constitutivos de una verdadera cápsula o productos de secreción sin estructura física delimitada, que se denominan Ag K. Están formados por polisacáridos de alto peso molecular y son *tipoespecíficos*. Un caso particular de Ag de superficie es el Ag Vi, existente en las cepas de *Salmonella typhi* recién aisladas, que se pierde en los subcultivos. Dada su situación superficial, el Ag Vi es responsable de la inaglutinabilidad de las cepas que lo poseen por los sueros específicos antisomáticos. Está formado por polímeros del ácido aminohexurónico.

Los Ag presentes en la pared celular son los Ag O o *somáticos*. El componente esencial es un complejo poliósido-lípido-polipéptido, que constituye la endotoxina. Sus propiedades tóxicas se deben a la fracción lipídica y el poder inmunógeno, a la polipéptida. La fracción poliósida es la responsable de la especificidad. En ella se distingue un núcleo basal, formado por polímeros de heptosa-fosfato, que configura el Ag somático característico de la especie y es común a las formas lisas y rugosas de la bacteria. Del núcleo basal parten cadenas de oligósidos que son los factores antigénicos O, grupoespecíficos y con frecuencia múltiples.

El espectro antigénico de una bacteria gramnegativa se compone, por consiguiente, de uno o varios factores O, el antígeno superficial K y el antígeno H, monofásico o difásico.

BIBLIOGRAFIA

Borek, F.: Immunogenicity, Physico-chemical and biological aspects. Elsevier North Holland, Amsterdam, 1972.

Dorf, M., y Benacerraf, B. (dirs.): The role of the Major Histocompatibility Complex in Immunobiology. Garland Press Publ., Inc., USA, 1980.

Gotze, D. (dir.): The Major Histocompatibility System in man and animals. Springer-Verlag, Berlin, 1977.

Kabat, E. A.: Structural concepts in immunology and immunochemistry. Holt, Rhinehart and Winston, New York, 1968.

Sela, M. (dir.): The antigens. Academic Press, New York, 1974.

Capítulo 19

Bases celulares de la respuesta inmunitaria. Respuesta celular

José Angel García-Rodríguez

Bases celulares de la respuesta inmunitaria

Los vertebrados, de manera especial los mamíferos, poseen sistemas que les permiten reconocer lo que les es propio o extraño. Por esto, cuando una sustancia (inmunógeno o antígeno) penetra en uno de aquellos organismos, se pone en contacto con un sistema de reconocimiento (sistema inmune), que determina una ausencia de respuesta, si es reconocida como propia (tolerancia inmunológica), o una respuesta específica si no lo es (respuesta inmune).

El sistema inmune está constituido por aquellos órganos y tejidos que se encargan del reconocimiento de los antígenos y tienen a su cargo la respuesta inmune. Está formado por células de estirpe linfática y no linfática, y los órganos y tejidos que lo conforman son el sistema linfático, el fagocítico monuclear (sistema reticuloendotelial o reticulohistiocitario) y la sangre.

La respuesta inmune se traduce en la destrucción o neutralización del antígeno, hecho que se ha comprobado que se produce por dos mecanismos específicos: por un lado, por la producción de anticuerpos y, por otro, por la aparición de células sensibilizadas. Por supuesto, en ambos casos se ponen en marcha otros mecanismos inespecíficos que desempeñan un importante papel. Cuando la vía eferente es la producción de anticuerpos, se habla de inmunidad humoral y, cuando es de células sensibilizadas, de inmunidad celular. Se ha comprobado de forma experimental y natural que ambas respuestas se llevan a cabo por distintas células linfáticas. Así, la extirpación del timo en pollitos y ratones recién nacidos provoca una alteración en la inmunidad celular, con un efecto mucho menor en la inmunidad humoral. Los síndromes de DiGeorge y de Nezelof, caracterizados por una aplasia e hipoplasia tímica congénita, van acompañados de una deficiencia en la inmunidad celular, en tanto que la humoral se mantiene. En contraposición con lo antedicho, se ha comprobado que la ablación de la *bursa* de Fabricio en pollos recién nacidos comporta una afectación de la inmunidad humoral, que en los mamíferos, al no existir esta estructura, no puede conseguirse experimentalmente, pero en el hombre sí se observa de forma natural en la agammaglobulinemia tipo Bruton. Se ha señalado ya que la timectomía de animales recién nacidos afectaba la inmunidad humoral en cierto grado, circunstancia que denota que las células T colaboran de alguna forma con las B.

Desde un punto de vista funcional, ambos tipos de inmunidad presentan asimismo diferencias, aunque ambas se complementan. La inmunidad humoral interviene fundamentalmente en la defensa de las infecciones piógenas y de las tóxicas, mientras que la inmunidad celular interviene en las infecciones intracelulares, en el rechazo de los aloinjertos, en la defensa frente a las células tumorales y en los trasplantes.

En ambos casos, la respuesta inmune es más eficaz después de un primer contacto, puesto que en él se selecciona el clon celular correspondiente determinando su sensibilización y su amplificación por las células de memoria.

CELULAS

Se ha demostrado, tanto estructural como funcionalmente, que para desarrollar una respuesta inmune normal, es necesaria la existencia de dos poblaciones celulares, una linfocitaria y otra no, que se regulan entre sí de acuerdo con un complejo sistema de interrelaciones, aún no totalmente aclarado. En este sentido, es imprescindible la presencia de linfocitos T, linfocitos B y macrófagos. Otra población linfocitaria, los linfocitos «*null*» (nulos), parece desempeñar un importante papel, aún no perfectamente conocido. Estas células forman parte de una serie de órganos y tejidos, en los que ejercen su función y que constituyen, como se ha señalado, el sistema inmune.

Las células linfocitarias circulan por la sangre o linfa o se hallan formando parte de los órganos linfáticos. Estos pueden presentar una estructura anatomofisiológica bien definida o constituir cúmulos linfoides más o menos estructurados presentes en situaciones normales o que aparecen en determinados procesos patológicos.

Las células del sistema fagocítico mononuclear pueden ser circulantes (monocitos) o bien encontrarse alojadas en los tejidos de determinados órganos en forma móvil o fija (macrófagos).

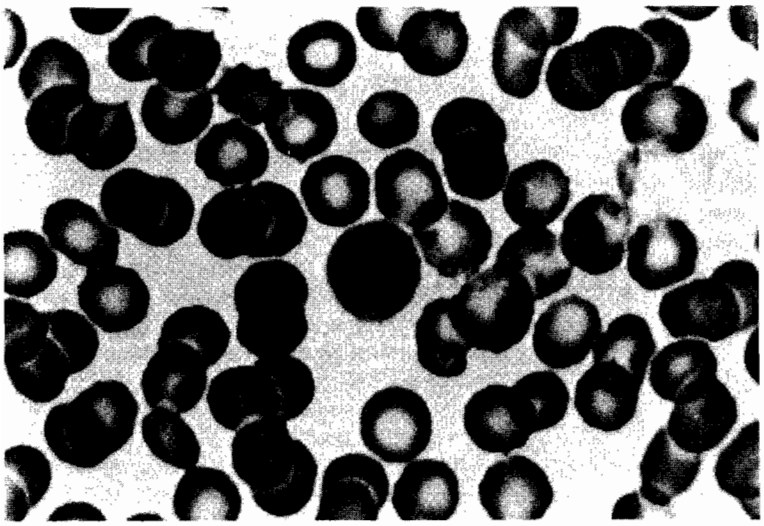


Fig. 19-1. Morfología de un linfocito.

Junto con linfocitos y macrófagos existen otras células que, a pesar de no formar parte del sistema inmunitario, intervienen en algún tipo de respuesta inmune, normal o patológica en su parte eferente.

Todas estas células tienen como nexo común su origen, pues todas derivan de las células *stem* o progenitoras pluripotenciales (tabla 19-1).

LINFOCITOS

Los linfocitos son las células específicas de la inmunidad. Tienen un tamaño de 8-12 µm y pueden oscilar de 5 a 15 µm. El tamaño no permite separar las distintas poblaciones, que, por otra parte, desde un punto de vista morfológico son indistinguibles. Al microscopio óptico (fig. 19-1) se presentan como células ovoides con un gran núcleo redondeado u oval, rodeado por una fina capa citoplásmica, más evidente en la zona donde se hallan los distintos orgánulos. Son móviles, aunque bastante menos que los granulocitos. Al microscopio electrónico (figs. 19-2 y 19-3) se pone de manifiesto un núcleo con heterocromatina rodeado por una membrana nuclear, un aparato de Golgi poco desarrollado, algunas mitocondrias y vesículas y ribosomas aislados en gránulos.

Tabla 19-1. Líneas celulares derivadas de las células "stem" pluripotenciales

Célula *stem* linfopoyética (células linfoides)
Linfocito T
Helper o estimulador (T_H)
Supresor (T_S)
Citotóxico o *killer* (T_C o T_K)
Efector de la hipersensibilidad retardada (T_{DTH})
Linfocito B
Células plasmáticas
Linfocito *null*
Asesino natural (célula NK)
Asesino (célula K)
Célula *stem* mielopoyética (células mieloides)
Macrófagos
Monocitos (sangre periférica)
Macrófagos (en tejidos)
Granulocitos
Eosinófilos
Neutrófilos
Basófilos
Mastocito o célula cebada
Célula *stem* eritropoyética (células eritroides)
Hematíes
Célula *stem* trombopoyética (células megacariocíticas)
Plaquetas

Los linfoblastos aparecen sólo rara vez en sangre y se suelen localizar en los órganos linfáticos secundarios (bazo, ganglios, etc.). Aparecen como consecuencia de un estímulo antigénico o por la acción de un mitógeno. Son más grandes que los linfocitos, con un tamaño de 15 µm o más. Poseen un núcleo de cromatina lasa rodeado por un citoplasma más amplio, un aparato de Golgi bien desarrollado y mayor número de vesículas y mitocondrias y polirribosomas.

Las células plasmáticas son (figs. 19-4 y 19-5) el estadio final de la diferenciación de los linfocitos B. También son de mayor tamaño, alrededor de 20 µm, y presentan un núcleo excéntrico rodeado de un abundante citoplasma, un aparato de Golgi bien desarrollado en una zona clara perinuclear y numerosas mitocondrias. Lo más característico de estas células es la presencia de un profuso retículo endoplásmico rugoso, hecho que está en relación con la abundante síntesis de inmunoglobulinas que realizan.

Aunque, desde un punto de vista morfológico, los linfocitos circulantes son idénticos, es necesario señalar que constituyen un grupo celular heterogéneo. Así, incluyen no sólo las poblaciones T y B, sino también las distintas subpoblaciones de estos grupos que tienen misiones muy diferentes. Pero, además, los componentes celulares de las distintas poblaciones o subpoblaciones pueden hallarse en diferentes grados de maduración. Lo mismo ocurre en los órganos linfáticos periféricos o secundarios, aunque aquí los linfocitos T y B se localizan en lugares específicos.

Como los linfocitos son idénticos morfológicamente, como se ha señalado, para diferenciar las distintas poblaciones, subpoblaciones y grado de madurez inmunológica se recurre a detectar la presencia, fundamentalmente en la superficie, de una serie de marcadores, principalmente: *a)* re-

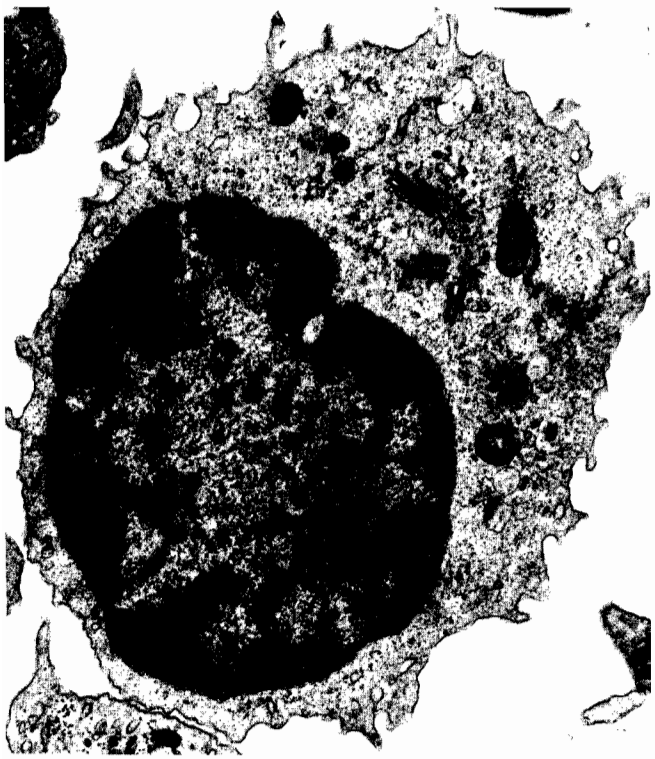


Fig. 19-2. Linfocito al ME (6.000 × 4,2). (Cortesía de la Dra. M. Cruz Coca, Servicio de ME, Facultad de Medicina de Valladolid.)

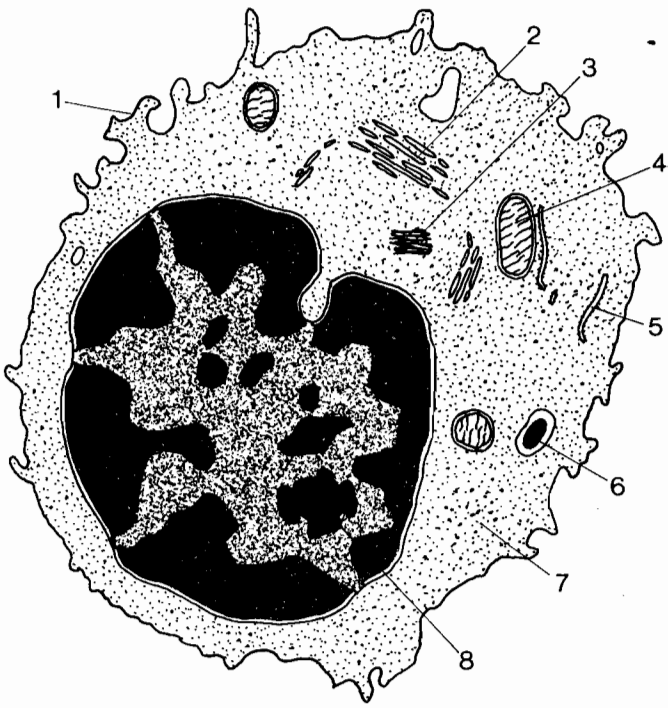


Fig. 19-3. Esquema de la estructura del linfocito de la figura 19-2; 1, membrana; 2, aparato de Golgi; 3, centríolo; 4, mitocondria; 5, retículo endoplásmico; 6, lisosoma; 7, ribosoma; 8, nucléolo.

ceptores para hematíes, la fracción Fc de distintas inmunoglobulinas, el complemento o virus de Epstein Barr; *b)* presencia de inmunoglobulinas en su superficie, y *c)* antígenos determinados por anticuerpos heterólogos o monoclonales.

Linfocitos T

Derivan de las células *stem* inmunorreactivas T, que bajo la influencia del timo se diferencian y expresan el fenotipo

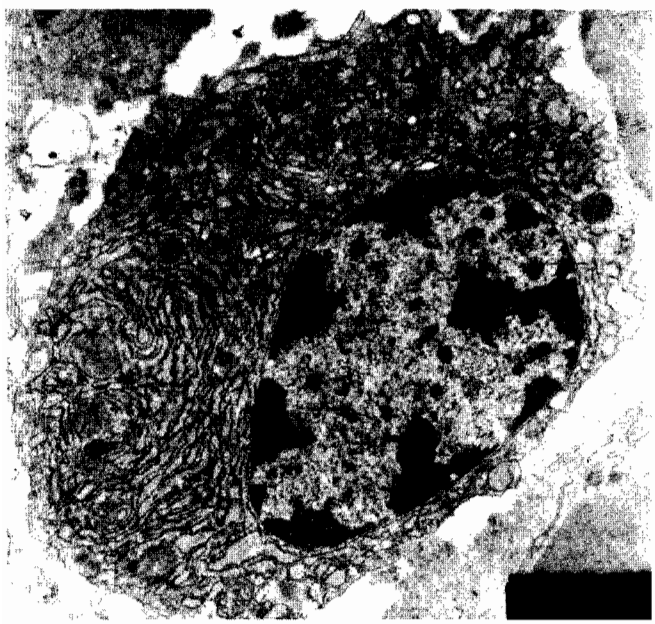


Fig. 19-4. Plasmocito al ME (7.000 × 3). (Cortesía de la Dra. M. Cruz Coca, Servicio de ME, Facultad de Medicina de Valladolid.)

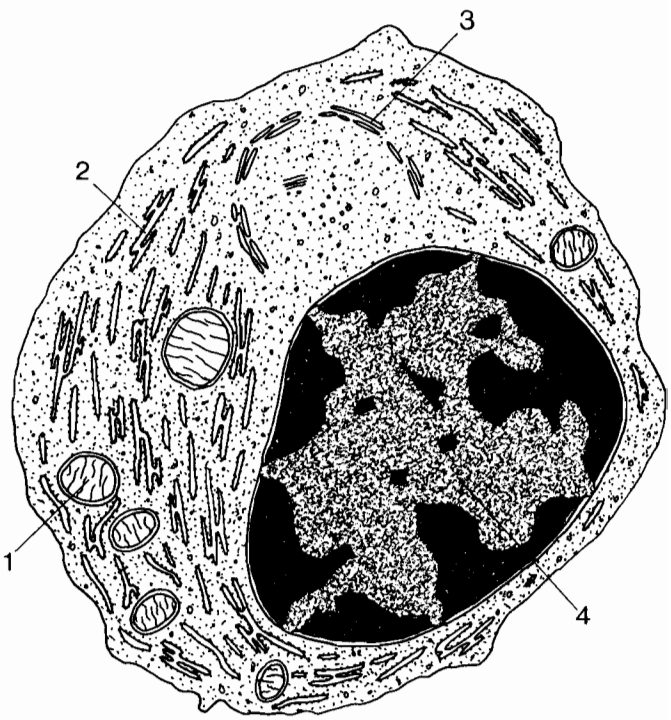


Fig. 19-5. Esquema de la estructura del plasmocito de la figura anterior: 1, mitocondria; 2, retículo endoplásmico rugoso; 3, aparato de Golgi; 4, cromatina.

Tabla 19-2. Características de las subpoblaciones de linfocitos T humanos

Tipo celular	Abreviación	Funciones
Citotóxico o *killer* (asesino)	T_C o T_K	Citólisis restringida, HLA antígeno específico
Helper o cooperador	T_H	Inducción y ampliación de la respuesta de las células T y B
Supresor	T_S	Supresión de la respuesta de las células T y B
Efector de la hipersensibilidad retardada	T_{DTH}	Producción de linfoquinas quimiotácticas

Tomado de Huddlestone, J. R., y Chisari, F. V.: Hematology, 3.ª ed., 1983.

propio del linfocito T, es decir, el timo hace que se conviertan en células inmunocompetentes maduras efectoras de la inmunidad celular.

Son un grupo heterogéneo, pues comprenden varias subpoblaciones (tabla 19-2) diferenciables por su función efectora específica y la presencia de distintos marcadores superficiales. Engloban:

1. Linfocitos T citotóxicos o *killer* (asesinos) (T_C o T_K). Son los encargados de destruir por contacto y de forma específica células, que en su superficie poseen determinantes antigénicos considerados extraños.
2. Linfocitos T efectores de la hipersensibilidad retardada (T_{DTH}). Actúan produciendo unos mediadores solubles (linfoquinas) y están implicados en la inmunidad celular antimicrobiana y la sensibilización por contacto. Los antígenos que los producen pueden ser solubles o particulados.
3. Linfocitos supresores (T_S). Su función es inhibir la rama eferente de la inmunidad, interviniendo tanto en la humoral como en la celular.
4. Linfocitos «T *helper*» o cooperadores (T_H), con una misión totalmente contraria a los anteriores.

Tradicionalmente, los linfocitos T_C y T_{DTH} se han denominado linfocitos efectores y los linfocitos T_S y T_H, reguladores.

Es necesario puntualizar que, para que ejerza su función, el clon específico de cada subpoblación linfocitaria T necesita ser estimulado por su correspondiente antígeno. Esta estimulación provoca la aparición de células de memoria para cada subpoblación y una función efectora específica.

En relación con ésta, cada subpoblación puede intervenir en: Inmunidad antitisular, como es el caso de la citólisis de células infectadas por el virus, rechazo del aloinjerto o inmunidad antitumoral. Inmunidad antimicrobiana y sensibilización por contacto, como hipersensibilidad retardada, hipersensibilidad por contacto y reacciones granulomatosas. Funciones reguladoras: los linfocitos T reguladores (T_S y T_H) por interacción con los linfocitos T efectores y linfocitos B controlan su función, induciendo o suprimiendo su proliferación y activación.

Origen y maduración

Las células *stem* pluripotenciales de la medula ósea, hígado fetal o saco vitelino, en un primer paso de diferenciación, dan lugar, entre otras, como ya se ha señalado, a las células *stem* linfopoyéticas. Estas son multipotenciales y de ellas derivan los linfocitos T y B. Se supone que ambos tipos de células linfocitarias provienen de este predecesor común, puesto que la existencia de alteraciones en él parece ser la responsable de los cuadros congénitos en los que existe una afectación combinada de la inmunidad celular y humoral. En un paso posterior, las células *stem* linfopoyéticas se transforman en células *stem* inmunorreactivas T (que también se conocen por precursores de los *timocitos*, *células pretímicas vírgenes* o *protimocitos*) y en células *stem* inmunorreactivas B o precursores de las células B. Los protimocitos emigran de su localización inicial al timo e infiltran su corteza y también, aunque de forma menos importante, formaciones linfáticas periféricas, fundamentalmente el bazo. Estas células *stem*, por la influencia del ambiente tímico o la acción de la timosina u otras hormonas tímicas se transforman en timocitos corticales. Gran parte de ellos son destruidos, pero algunos emigran a la medula como timocitos medulares, que cuando maduran totalmente abandonan esta glándula como linfocitos o células T maduras, que son totalmente inmunocompetentes.

Hasta aquí, es importante señalar que todas las fases analizadas se han producido sin la presencia de antígenos. La estimulación de una célula T madura por su correspondiente antígeno da lugar a una célula T activada o específicamente sensibilizada y células T de memoria, que determinan que en una segunda penetración antigénica la reacción sea más rápida e intensa. Los linfocitos T maduros que abandonan el timo pertenecen a las subpoblaciones T_C, T_{DTH}, T_S y T_H. Todas ellas necesitan el contacto con el antígeno para activarse.

A lo largo de todo este proceso madurativo, las distintas etapas celulares se caracterizan por poseer unos determinados marcadores fundamentalmente superficiales, que se pierden o adquieren al pasar a estadios ulteriores.

Marcadores (tabla 19-3)

Ya se ha señalado que estas células poseen receptores para los hematíes de carnero con los que forman rosetas (RSHC). Esta prueba se ha utilizado durante varios años para diferenciar los linfocitos T de los B, pero, como es

Tabla 19-3. Marcadores de las subpoblaciones de linfocitos T humanos

Tipo celular	Abreviación	Marcadores
Linfocito derivado del timo o timodependiente	Linfocito T o célula T	RSHC, ALTH, HLA-A, HLA-B, HLA-C, OKTI, OKT3, Leu 1, 17F12, 9.6
Linfocito T citotóxico o asesino *(killer)*	T_C o T_K	TH_2, OKT5, OKT8, Leu 2a, Leu 2b
Linfocito T colaborador *(helper)*	T_H	OKT4, Leu 3, Fcμ
Linfocito T supresor	T_S	TH_2, OKT5, OKT8, Leu 2b, Leu 2b, Ia, $Fc\gamma H_2$
Linfocito T de la hipersensibilidad retardada	T_{DTH}	OKT4

Tomado de Huddlestone, J. R., y Chisari, F. V.: Hematology, 3.ª ed., 1983.

muy influible debido a los factores externos, los resultados obtenidos con los linfocitos de sangre periférica varían significativamente.

También se ha demostrado que poseen receptores para la Fc de algunas inmunoglobulinas, IgM (Tμ), IgG (Tγ), IgA (Tα) e IgE (Tε). Estos receptores ya establecen la existencia de distintas subpoblaciones. Los linfocitos Tγ suprimen la síntesis de inmunoglobulinas en los linfocitos B y contienen subgrupos que median una citotoxicidad espontánea o dependiente de anticuerpos. Los Tμ inducen la síntesis de inmunoglobulinas y no son citotóxicos. En la sangre periférica, alrededor de 60-70 % de los linfocitos T son Tμ y el 20 %, Tγ.

Con antisueros heterólogos frente a linfocitos T humanos exhaustivamente absorbidos se ha demostrado la existencia, en su superficie, de un antígeno específico, «antígeno de los linfocitos T humanos» (HTLA: *human T-lymphocite antigen*). Alrededor del 65 % de los linfocitos de sangre periférica poseen este antígeno, mientras que está presente en el 97 % de los timocitos. A nivel madurativo, este antígeno aparece en las células T antes que los receptores superficiales para los hematíes de carnero (RSHC); por esto, se encuentra que algunos linfocitos T presentan ALTH y no RSHC. Con este mismo tipo de antisueros se ha demostrado que ciertos linfocitos T poseen un antígeno denominado TH_2. Esta subpoblación presenta propiedades citolíticas y supresoras, es decir, se trata de un antígeno que está presente en los T_K o T_C y en los T_S. En los linfocitos *T* supresores se ha demostrado la existencia de receptores histamínicos tipo 2, que servirían para activarlos.

La introducción del uso de los anticuerpos monoclonales en este campo ha permitido determinar la presencia de antígenos que posibilitan la diferenciación de los linfocitos T de otras poblaciones linfocitarias y, dentro de aquéllos, las distintas subpoblaciones existentes.

Los estudios con anticuerpos monoclonales se iniciaron con linfocitos murinos, por ello se conocen mejor los receptores de éstos; no obstante, como se puede observar en la tabla 19-4, en los últimos años se han conseguido considerables progresos en el estudio de los marcadores de linfocitos humanos.

En primer lugar se analizan los marcadores presentes en todos los linfocitos T. El anticuerpo 9.6 identifica un antígeno asociado a RSHC y está presente en más del 99 % de los L_T. Los anticuerpos OKT1, Leu 1 y 17F12 se unen prácticamente a la totalidad de los L_T. Igual ocurre con los anticuerpos OKT2 y OKT3. Los antígenos puestos de manifiesto con los anticuerpos OKT se denominan T (OKT1 = T1, OKT2 = T2, etc.).

Otro anticuerpo monoclonal (OKT4) reacciona con los linfocitos T cooperadores (T_H) inductores, que corresponden a la población TH_2 negativa. Se ha comprobado que la subpoblación que reacciona con el anticuerpo OKT4 es la inductora *helper*, porque sólo responde a los antígenos solubles, y, además, se requiere su presencia para que exista una adecuada citotoxicidad. Estos linfocitos también reaccionan con otro anticuerpo monoclonal denominado Leu 3. Las células $OKT4^+$ equivalen a las Ly1 murinas. Los T_{DTH} son también $OKT4^+$.

La población $OKT4^-$ sólo es citotóxica después de una sensibilización aloantigénica y engloba las poblaciones supresora y citotóxica. Estos linfocitos pertenecen al grupo TH_2. Se ha encontrado que reaccionan con los anticuerpos

Tabla 19-4. Antígenos de los linfocitos T humanos reconocidos por anticuerpos monoclonales

Anticuerpos	Peso molecular del antígeno diana en daltons	Porcentaje de linfocitos T portadores
9.6	55.000	> 99
Leu 1/17F12	67.000	98
OKT1	67.000	98
OKT2	20.000	> 90
OKT3	19.000	> 90
Leu 2a*	32.000-43.000	20-40
Leu 2b*	32.000-43.000	20-40
Leu 3	55.000	55-65
OKT4	62.000	55-65
OKT5	30.000-32.000	20-40
OKT8	30.000-32.000	20-40

Modificado de Huddlestone, L. R., y Chisari, F. V.: Hematology, 3.ª ed., 1983.
*Macromolécula.

monoclonales OKT5, OKT8, Leu 2a y Leu 2b. Estos dos últimos probablemente sean análogos a los antígenos murinos Ly2 y Ly3.

Antígenos del tipo Ia en el hombre se denominan antígenos Dr y existen en la superficie de los T_S, que estarían asociados con su activación.

En todos los linfocitos T existen antígenos derivados del complejo mayor de histocompatibilidad, HLA-A, HLA-B y HLA-C. En los T_S, como ya se ha dicho, existe el antígeno Ia en el ratón, que está en relación con los genes Ir del complejo mayor de histocompatibilidad del ratón (h-2), y en el hombre el antígeno Dr en relación con el H1A-D.

En el ratón, los marcadores de los LT son el antígeno Thy-1 (antes theta, θ), los antígenos del grupo Lyt (1, 2, 3), el antígeno de la leucemia tímica (AgTL) y los antígenos determinados por el complejo mayor de histocompatibilidad (h-2). Estos marcadores se reparten entre las distintas subpoblaciones de LT.

Como ya se ha apuntado, durante la maduración de la línea T, las distintas etapas celulares se caracterizan por la

Tabla 19-5. Marcadores de la línea T (con anticuerpos monoclonales OKT)

Célula *stem* pluripotencial		
↓		
Célula *stem* linfoide o linfopoyética		
↓		
Célula *stem* inmunorreactiva T o Protimocito o Precursor de la célula tímica	$OKT10^+$	$OKT9^+$, $OKT10^+$
↓		
Timocito cortical	$OKT10^+$, $OKT6^+$, OKT4, OKT5, OKT8	
↓		
Timocito medular o maduro	$OKT10^+$, $OKT3^+$, $OKT4^+$, $OKT10^+$, $OKT1^+$, $OKT3^+$, $OKT5^+$, $OKT8^+$	
↓		
Célula T periférica	$OKT1^+$, $OKT3^+$, OKT4, $OKT1^+$, $OKT3^+$, $OKT5^+$, $OKT8^+$	

Modificado por Volk, W. A., 1982.

adquisición o pérdida de diferentes receptores. De los que se ponen de manifiesto por sistemas que no implican anticuerpos monoclonales, el primero en aparecer es el antígeno de los linfocitos T humanos, pues ya está presente en los timocitos corticales. Los receptores superficiales para hematíes de carnero aparecen en los timocitos medulares o maduros, los receptores para el Fc de inmunoglobulina, en las células T maduras y los antígenos Ia (Dr en el hombre), en las células T activadas. En cuanto a los antígenos puestos de manifiesto por anticuerpos monoclonales, en la tabla 19-5 pueden observarse cuáles son las características en cada estadio de diferenciación. El anticuerpo OKT10 reacciona con antígenos presentes en los protimocitos y timocitos. El OKT9 con antígenos de células en rápida reproducción reacciona con los protimocitos. El OKT6 reacciona con antígenos presentes en los timocitos corticales. El OKT1, como se ha señalado, es característico de los linfocitos T periféricos, aunque también reacciona con antígenos presentes en la subpoblación supresora-citotóxica de los timocitos corticales.

Linfocitos B

Derivan de las células *stem* de la medula ósea (en el adulto). Adquieren su capacidad funcional en la propia medula (mamíferos) o en la *bursa* de Fabricio (aves), de ahí el nombre de linfocitos B o burso-dependientes. Los linfocitos B, una vez capacitados, se convierten en precursores de las células plasmáticas, cuya misión es producir anticuerpos.

La diferenciación a linfocitos B se realiza fundamentalmente en la medula ósea y se completa en los órganos linfáticos periféricos. Este proceso implica una gran multiplicación y es independiente de las influencias externas y de los antígenos; se produce por la influencia propia del microambiente de la medula ósea. Es una regulación celular sobre la base de un mecanismo genético. Los linfocitos B abandonan la medula y a través de la sangre colonizan las áreas burso-dependientes de los órganos linfáticos periféricos.

En los órganos linfáticos periféricos se producen, tras un estímulo antigénico, una proliferación y diferenciación a células plasmáticas, que sintetizan anticuerpos específicos frente al antígeno estimulador. Las células plasmáticas son células de vida corta.

Los linfocitos B son células morfológicamente indistinguibles de los T, y se diferencian por los marcadores y sus funciones.

Marcadores

Los linfocitos B poseen en su superficie inmunoglobulinas monoméricas, fundamentalmente IgM o IgD (IgMs, IgDs), que actúan como receptores de antígenos específicos. Existen también receptores para la fracción cristalizable (RFc) de distintos isotipos de inmunoglobulinas (IgM, IgG, IgA, IgE). Estos receptores son estimuladores de las células B. Están asociados especialmente con los antígenos Ia (Dr o B en el hombre).

Los linfocitos B presentan en su superficie el antígeno Ia *(I-region associated)*, cuya producción está regulada por los genes Ir *(immune responsable genes)*. Está constituido por dos cadenas de glicoproteínas que intervienen en la comunicación celular durante la inducción de la respuesta inmune y desempeñan un importante papel en su regulación. El antígeno Ia no sólo existe en los linfocitos B, sino que también se ha demostrado en los macrófagos, células T activadas, células *null* y factores producidos por los linfocitos T supresores y *helper*. Este antígeno es murino; en el hombre, el equivalente es el antígeno Dr o aloantígeno B, cuya producción está controlada por la zona D de los genes HLA.

Existen receptores para el complemento, de función no totalmente establecida, principalmente para la fracción C_3 (C_{3b} y C_{3d}), pero también para la C_{4b}. Asociados a los receptores del C_{3d}, existen receptores para el virus de Epstein-Barr (RVEB).

Usando anticuerpos heterólogos se ha demostrado un antígeno específico de los linfocitos B. Con anticuerpos monoclonales se ha obtenido uno, denominado B_1, que reacciona con el 95 % de los linfocitos B periféricos. No está relacionado con las Igs ni con el antígeno Ia.

Por último pueden diferenciarse de los linfocitos T basándose en la capacidad de formar rosetas con hematíes de ratón unidos a anticuerpos específicos, ya que se une a la Fc, que se mantiene libre.

Origen y maduración

Los primeros pasos son los mismos que se han descrito para los linfocitos T. De esta forma, las células *stem* linfopoyéticas se diferencian en células *stem* inmunorreactivas B o precursoras de las células B. A partir de éstas se diferencian las células preB, las primeras claramente identificadas en la línea B. Posteriormente se transforman en células B inmaduras y ulteriormente en células B maduras. Todo este proceso se realiza sin presencia de antígeno y cada paso madurativo va acompañado de la adquisición de determinados marcadores.

En la medula ósea, dentro de los linfocitos pequeños, existen dos subpoblaciones: una se divide rápidamente y es la más abundante, mientras que la otra no lo hace y está constituida por linfocitos T de memoria. La primera es la que va a dar lugar a los linfocitos B; primero las células preB se mantienen 30-36 horas, en reposo, hasta que comienzan a aparecer los marcadores (tabla 19-6) propios de los linfocitos B inmaduros, proceso que puede terminar en la medula o en los tejidos linfáticos periféricos. La maduración y adquisición de los marcadores específicos de linfocitos B maduros se realizan a este último nivel.

La célula preB posee cadenas pesadas de inmunoglobulina en su citoplasma, pero no posee inmunoglobulinas ni otros sistemas de reconocimiento en su superficie. Se han encontrado, además, en la medula ósea del adulto y feto, en el bazo y ganglios fetales. Un pequeño número de ellas llevan antígeno Ia en su superficie. Gran parte de estas células se destruyen en la medula ósea, como ocurre con los timocitos en el timo.

Las células B inmaduras se caracterizan en que poseen el antígeno específico de los linfocitos B, que es el primero en aparecer. Después surgen los receptores para la fracción cristalizable y, por último, aparece IgM en la superficie. Esta se debe a que ya producen las cadenas pesadas y ligeras y sintetizan por completo esta inmunoglobulina. Además, responde sintetizando ya inmunoglobulinas frente a antígenos timo-independientes tipo I y frente a timo-

Tabla 19-6. Marcadores de la línea B

Célula *stem* pluripotencial	
↓	
Célula *stem* linfoide o linfopoyética	
↓	
Célula *stem* inmunorreactiva B o Precursor de la célula B	
↓	
Célula preB	Ia+ (HLA-Dr+) Cadenas μ en el citoplasma+ RFc+
Célula B	Ia+ (HLA-Dr+) RFc+
↓	IgM+ Rosetas con eritrocitos de ratón
Célula B madura	Ia+ (HLA-Dr+) RFc+ IgM, IgD+ Rosetas con eritrocitos de ratón RC3 RVEB
	Célula B de memoria IgD+ IgG+
Célula plasmática	Ig− Ig en citoplasma+

Modificado por Volk, W. A., 1982.

dependientes, siempre que exista una adecuada colaboración por parte de los macrófagos y linfocitos T. Abandona la medula ósea y llega por vía sanguínea a los órganos linfoides periféricos en los que adquiere la madurez, que va acompañada de la adquisición de receptores para el complemento (RC o RC_3). Las células B maduras responden a los antígenos antes mencionados y a los timo-independientes tipo II.

La última fase de la diferenciación de la línea B es antígeno-dependiente. Se realiza en los órganos linfáticos periféricos donde un antígeno estimula el linfocito B, interviene el macrófago y se produce una proliferación y diferenciación en células plasmáticas que producen inmunoglobulinas clase y antígeno-específicas. Las células plasmáticas no tienen inmunoglobulinas ni otros marcadores en su superficie. En su citoplasma, por supuesto, hay inmunoglobulinas. Si el antígeno es timo-dependiente, intervienen también linfocitos T reguladores.

El antígeno es presentado al linfocito B por el macrófago y se une a los receptores de las inmunoglobulinas que existen en la superficie de aquél. Si el antígeno es timo-independiente, se producirá posteriormente la proliferación y diferenciación, con producción de IgM. Si es timo-dependiente, estos procesos serán modulados por linfocitos T cooperadores o *helper* y supresores. En este caso, las células plasmáticas producirán IgG, IgA, IgM e IgE. También se producen células que no se activan en este momento, los linfocitos B de memoria, que tienen una vida de varios meses. Estas células tienen en su superficie Igs y un contacto ulterior con el antígeno provoca una producción rápida y abundante de IgG o IgA.

Parece que las células que responden a un determinado antígeno sin la intervención de los linfocitos T pertenecen a un subgrupo denominado B2, y carecen de receptores para C3 y de antígeno Ia. Por el contrario, las células que requieren la intervención de los linfocitos T pertenecen al subgrupo B1.

Linfocitos o células nulas («null»)

Constituyen el 15 % de los linfocitos periféricos. Durante tiempo se ha dudado de su estirpe. Se consideró que eran monocitos, ya que poseen antígeno M1 que se pone de manifiesto con el anticuerpo monoclonal OKM1 y es específico de los monocitos/macrófagos. No obstante, se descarta esta posibilidad porque no se tiñen con la α-naftil-acetato-esterasa, tinción propia de estas células. Como carecen de los marcadores propios de los linfocitos T o B, se les ha denominado linfocitos nulos. Poseen en su superficie antígeno Ia y receptores para la Fc de la IgG, complemento y VEB.

Engloba dos subpoblaciones, la de las células NK o *natural killer* (asesinos naturales) y la de las células K o *killer* (asesinas).

Las células NK son las responsables de la citotoxicidad natural y existen en huéspedes normales, tanto en el hombre como en los animales. Se ha demostrado que destruye células de líneas tumorales y transformadas por virus, sin que intervengan anticuerpos y sin sensibilización previa. Su actividad se ve aumentada por la actuación del interferón tipo I. Su función *in vivo* está probablemente relacionada con la inmunovigilancia en tumores.

Las células K intervienen en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA). Este tipo de citotoxicidad no se restringe a los antígenos HLA (como la mediada por T_C) y requiere la presencia de anticuerpos unidos a las células dianas, IgG y probablemente IgM. Para ejercer su acción se une a la Fc de estos anticuerpos. Son importantes en las infecciones víricas e intervienen en la hipersensibilidad tipo 2.

MACROFAGOS

Los macrófagos son fagocitos grandes mononucleares que se mueven a través de los tejidos, se deslizan entre sus células o permanecen fijos en ellos. Además de su capacidad fagocitaria, son esenciales para la inmunocompetencia humoral y celular, participan en los procesos inflamatorios, fundamentalmente en los crónicos, y forman parte de la rama eferente de la inmunidad celular cuando intervienen los T_{DTH}.

Son el último eslabón o los elementos maduros del sistema fagocítico mononuclear, que engloba los macrófagos, monocitos sanguíneos y medulares, promonocitos, que son los primeros precursores claramente identificables, monoblastos y otros precursores medulares. Los monocitos (fig. 17-4) son elementos intermedios entre los promonocitos y los macrófagos (fig. 17-5). Como se puede observar en la tabla 19-7, los macrófagos pueden ser fijos y móviles y, según la localización en los distintos tejidos y órganos, recibir distintos nombres. Además, están presentes en situaciones normales y en los estados inflamatorios, donde pueden aparecer bajo distintos aspectos morfológicos.

El macrófago humano es una célula de 15-25 μm, con uno o varios núcleos grandes, un aparato de Golgi bien desarro-

Tabla 19-7. Sistema fagocítico mononuclear

Célula *stem*	Medula ósea
Célula *stem* comisionada	
Monoblasto	
Promonocito	
Monocito	
Monocito	Sangre periférica
Macrófagos	Tejidos (en la lista siguiente)

Estado normal	*Inflamación*
Tejido conectivo (histiocito)	Macrófagos exudativos
Hígado (célula de Kupffer)	Macrófagos residentes--exudados
Pulmón (macrófago alveolar)	
Ganglios linfáticos (macrófagos libres y fijos; ¿células interdigitales?)	Células epitelioides
	Células gigantes multinucleares (tipo Langerhans y tipo cuerpo extraño)
Bazo (macrófagos libres y fijos)	
Medula ósea (macrófagos fijos)	
Cavidades serosas (macrófagos peritoneales y pleurales)	
Hueso (osteoclastos)	
Tejido nervioso (células microgliales)	
Piel (histiocitos, células de Langerhans)	
Sinovial (¿células tipo A?)	
Otros órganos (macrófagos tisulares)	

Tomado de Van Furth, R., 1980.

llado y numerosos lisosomas. Clásicamente se identifica por su capacidad de adherirse a superficies de plástico y cristal, su tinción positiva con la α-naftil-acetato-esterasa y las pruebas funcionales de fagocitosis. Posee los siguientes marcadores: receptores para el complemento y para la Fc de la IgG, y un antígeno M1 que se pone de manifiesto mediante anticuerpos monoclonales OKM1; este antígeno está también presente en las células *null* y en las T. Posee actividad estearásica y peroxidásica; esta última la pierde cuando madura totalmente.

Ontogénicamente deriva de las células *stem* del saco vitelino y en el adulto se produce en la medula ósea. En esta localización, la célula *stem* pluripotencial se transforma primero en célula *stem* hematopoyética y ésta a continuación, en célula *stem* mielopoyética. Un paso ulterior se traduce en la aparición de una célula *stem* bipotencial, la unidad formadora de colonias de neutrófilos y monocitos (UFC-NM). Esta formará monoblastos, que se diferenciarán en promonocitos (primera célula claramente identificable en esta serie) y luego en monocitos. Estos elementos inmaduros se producen en la medula ósea, que después abandonan para pasar a sangre, donde viven poco tiempo (en el ratón unas 20 horas) para sustraerse en los tejidos, donde se transforman en macrófagos. Los macrófagos tisulares tienen este origen, aunque también pueden proceder de su propia división, pues la propiedad de multiplicarse no la pierden al madurar. En la figura 19-6 pueden observarse las diferencias entre los distintos estadios madurativos de los componentes del sistema fagocitario mononuclear. Las células multinucleadas aparecen como consecuencia de la

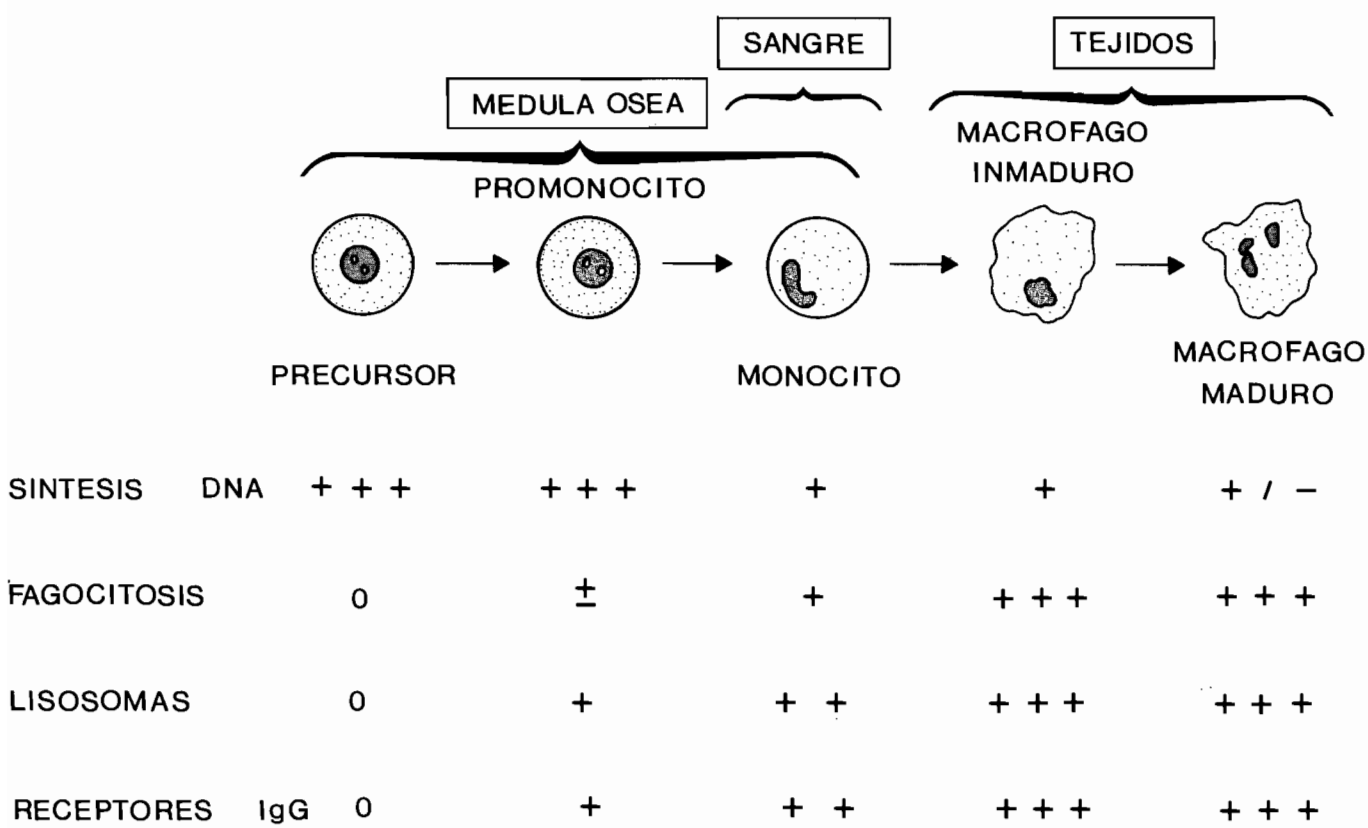


Fig. 19-6. El sistema fagocítico mononuclear. Diferencias entre sus componentes. (Tomado de Golpe, O.W., y Gozpman, J. E.: Hematology, 3.ª ed., 1983.)

fusión de macrófagos o procesos de endorreduplicación nuclear.

Los macrófagos, como se verá a continuación, desempeñan un importante papel en la regulación de la respuesta inmune y en otros sistemas de defensa.

Como reguladores de la respuesta inmune intervienen tanto en su vertiente celular como humoral, induciendo o suprimiendo. En este apartado intervienen de varias formas: *a)* Controlan la concentración de antígeno por su fagocitosis y destrucción fijándolo en su superficie o interiorizándolo sin degradarlo y posteriormente exteriorizándolo lenta y gradualmente. *b)* Procesan el antígeno de forma que sea eficaz, en caso de que exista escasa cantidad de éste. Es probable que lo unan a moléculas de RNA para constituir el superantígeno. *c)* Presentan el antígeno. En este sentido lo unen, convenientemente procesado, a su superficie, de forma que sea fácilmente accesible a los receptores de los L_T y L_B. *d)* Controlan genéticamente la respuesta. Para que se produzca la activación del T_H, es necesario que sea compatible con el macrófago, en un fenómeno denominado restricción genética. De esta forma, el macrófago tiene en su superficie un antígeno denominado Ia, codificado por los genes del complejo mayor de histocompatibilidad que debe ser reconocido por el T_H. e) Producen las sustancias estimulantes de los precursores del T_H, como interleukina 1 que tiene esta función, y los transforma en T_H efectores.

Junto a los neutrófilos son las principales células fagocitarias. Realizan procesos de fagocitosis y pinocitosis (cap. 17). Para llevar a cabo esta función poseen una adecuada dotación de enzimas. En la tabla 19-8 puede observarse la amplia capacidad que tienen los macrófagos de secretar sustancias que desempeñan un importante papel en la digestión de partículas fagocitadas, en el desarrollo y control de la inflamación, en las interrelaciones celulares, etc.

Por último y gracias a la producción por los T_{DTH} de linfoquinas activas sobre los macrófagos intervienen en la rama efectora de la inmunidad celular. Por la secreción de diferentes mediadores y reguladores químicos, su papel es de crucial importancia en el desarrollo y control de la inflamación, fundamentalmente en los procesos crónicos.

OTRAS CELULAS EFECTORAS DE LA RESPUESTA INMUNE

De forma más o menos directa pueden intervenir en algún tipo de respuesta inmune los granulocitos y las células cebadas. La función más importante de los neutrófilos (fig. 17-3) es la fagocitosis (cap. 17). Por la gran cantidad de enzimas que puede verter al exterior, desempeña un importante papel en el establecimiento de la inflamación, fundamentalmente en la aguda. Su intervención es muy importante en los fenómenos de hipersensibilidad mediada por complejos, pues existe una activación del complemento y formación de complejos precipitables.

El eosinófilo es también un granulocito con capacidad fagocitaria y secretora, aunque en una cuantía muy inferior al neutrófilo. Es atraído a los focos inflamatorios por factores quimiotácticos, fundamentalmente por el factor quimiotáctico de los eosinófilos de la anafilaxia (FQE-A) y una linfoquina producida por los linfocitos T_{DTH} en la respuesta celular. En la anafilaxia, como se puede comprobar en el capítulo 23, parece que desempeña un papel moderador. En la inmunidad celular, la linfoquina con capacidad quimiotáctica se produce, al parecer, cuando el antígeno es parasitario. La secreción de gránulos, cuyo contenido es menos hidrolítico que el de los neutrófilos, se produce fundamentalmente por unión a inmunoglobulinas, para cuya fracción cristalizable tiene receptores en la membrana (fig. 19-7). Estos productos de secreción parece que desempeñan algún papel en la defensa frente a las parasitosis, como se ha comprobado experimentalmente con esquistosomas.

Los basófilos y células cebadas desempeñan un papel imprescindible como efectores de las reacciones de hipersen-

Tabla 19-8. Productos secretados por los fagocitos mononucleares

Enzimas
Lisozima, enzimas lisosomales (fosfatasa ácida, glicosidasas, otras), proteinasas neutras (colagenasa, elastasa, activador del plasminógeno)
Componentes del sistema complemento
C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, factor B, factor D, C1INH
Metabolitos del ácido araquidónico
Prostaglandinas, leucotrienos, factor activador del complemento (1-0-alquil-fosfátidos)
Interferón
Fibronectina
Pirógeno endógeno
Factores activadores de los linfocitos (interleukinas)
Macroglobulina α_2
Factor estimulador de las colonias
Para progenitores de neutrófilos, monocitos, eosinófilos y eritrocitos

Tomado de Alkerman, S. K., y Douglas, S. D.: Hematology, 3.ª ed., 1983.

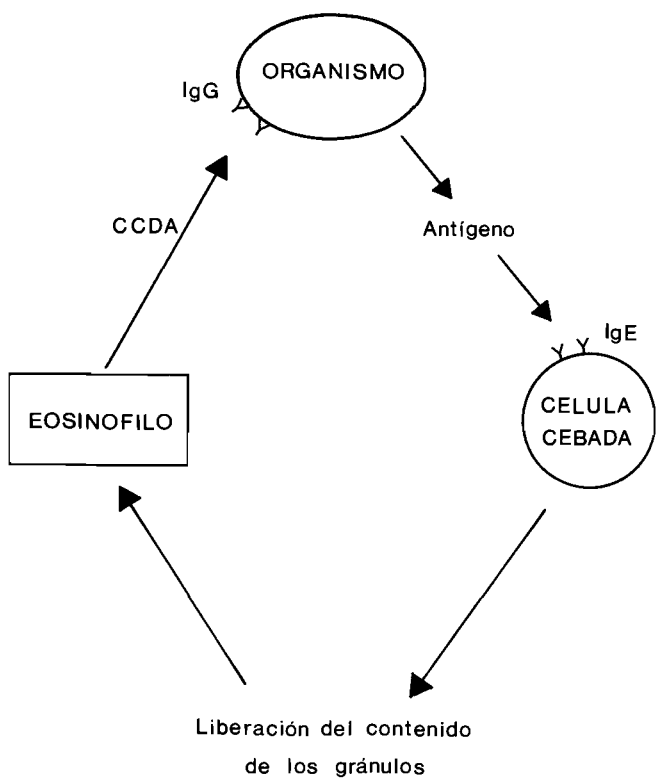


Fig. 19-7. Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA), llevada a cabo por los eosinófilos. (Tomado de Rook, G. A. W.: Immunology in Medicine, 2.ª ed., 1983.)

sibilidad de tipo anafiláctico. Tienen receptores para IgE en su membrana. La unión del correspondiente antígeno bivalente a dos de estas moléculas determina la secreción activa de los mediadores de la anafilaxia contenidos en las abundantes vesículas de estas células. Aunque son muy parecidos morfológica y funcionalmente, son diferentes ontogénicamente y con relación a sus capacidades funcionales. Parece ser que la capacidad de reacción de las células cebadas varía según su localización tisular, lo que explicaría, en parte, las distintas formas clínicas de este tipo de hipersensibilidad.

COOPERACION CELULAR

Para que la respuesta inmune se desarrolle, es necesario que el antígeno específico actúe sobre una célula inmunocompetente, y es necesaria la interrelación entre sí de las distintas poblaciones y subpoblaciones linfocitarias y de éstas con células accesorias, especialmente con macrófagos. Incluso, en la inmunidad celular, para que se lleve a cabo la respuesta cuando intervienen los linfocitos T_{DTH}, se requiere una interrelación con los macrófagos y con algún otro tipo celular por medio de las linfoquinas.

El primer tipo de interrelaciones se pueden separar en:

1. Interrelaciones entre los macrófagos y las células T y B.
2. Interrelaciones entre las células T y las B.

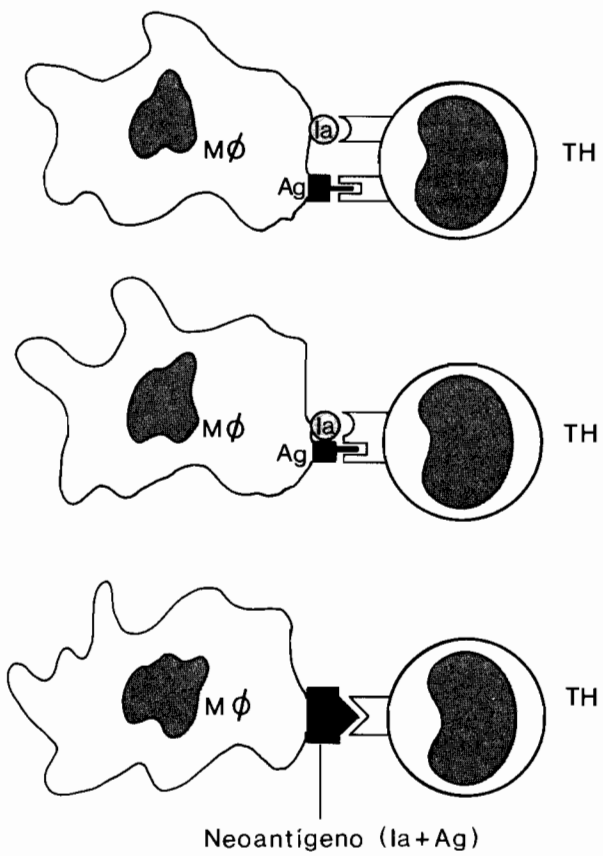


Fig. 19-8. Posibles mecanismos de presentación del antígeno por el macrófago y del reconocimiento de éste por el linfocito T *helper*. (Tomado de Volk, W.A., 1982.)

3. Interrelaciones entre las distintas subpoblaciones de linfocitos T.

Todo este complejo sistema de comunicación intercelular puede determinar una estimulación o supresión de la respuesta inmunitaria, y existe un auténtico sistema *feedback* en su regulación. La interrelación celular está regulada genéticamente de forma esencial por el complejo mayor de histocompatibilidad.

Interrelación entre los macrófagos y las células T y B (fig. 19-8)

Los macrófagos, además de poseer una importante capacidad fagocitaria, son imprescindibles en la respuesta inmune, ya que, sin su presencia, los linfocitos T y B no pueden ser inducidos por un antígeno específico. Como ya se ha señalado, los macrófagos procesan de alguna forma el antígeno y lo presentan a los linfocitos unido a su membrana. Por esto también se denominan células presentadoras de antígenos. De los macrófagos sólo tienen la propiedad de presentar antígenos los Ia^+, es decir, los que poseen en su superficie antígenos Ia (aloantígeno B o Dr en el hombre). Estos son poco fagocíticos y poseen un bajo contenido en enzimas digestivas, lo que permite entender que mantengan el antígeno, en lugar de destruirlo. Poseen receptores para la fracción Fc de las inmunoglobulinas y pueden por ello también unir el antígeno a anticuerpos naturales. Células de este tipo existen en lugares estratégicos implicados en la respuesta inmune, como células de Langerhans en la epidermis y células reticulares del bazo y de los ganglios linfáticos.

De las interrelaciones de los linfocitos con el macrófago, la más conocida es la de los linfocitos T *helper*, que se produce dentro del contexto de la inmunidad humoral, lo que se analizará posteriormente.

Para que se produzca la estimulación, es necesario que exista una compatibilidad genética entre el macrófago y el linfocito T. Los elementos de restricción presentes en la superficie de ambas células deben ser compatibles y son codificados por la región I del complejo H-2 del ratón y por la HLA-D del hombre. Es decir, en el proceso se produce un fenómeno de restricción genética o de restricción del CMH. El elemento de restricción en el macrófago es el antígeno Ia, del ratón o Dr del hombre. Como los linfocitos T *helper* no presentan en su superficie antígenos Ia, es necesario que estas células reconozcan como propio el antígeno Ia del macrófago.

Interrelaciones entre las células T y B. Reconocimiento del antígeno

Para que los linfocitos T cooperen efectivamente con el linfocito B, es necesario que ambos puedan reconocer el antígeno en la superficie del macrófago. El primer paso consiste en la activación del linfocito T_H, para lo cual debe reconocer en la superficie del macrófago dos entidades distintas, el antígeno y el propio antígeno Ia. Esto puede ocurrir por tres mecanismos distintos (fig. 19-8): que existan dos receptores distintos o bien un único receptor para los dos, o en último caso un receptor para un nuevo antígeno formado por el antígeno y el antígeno Ia.

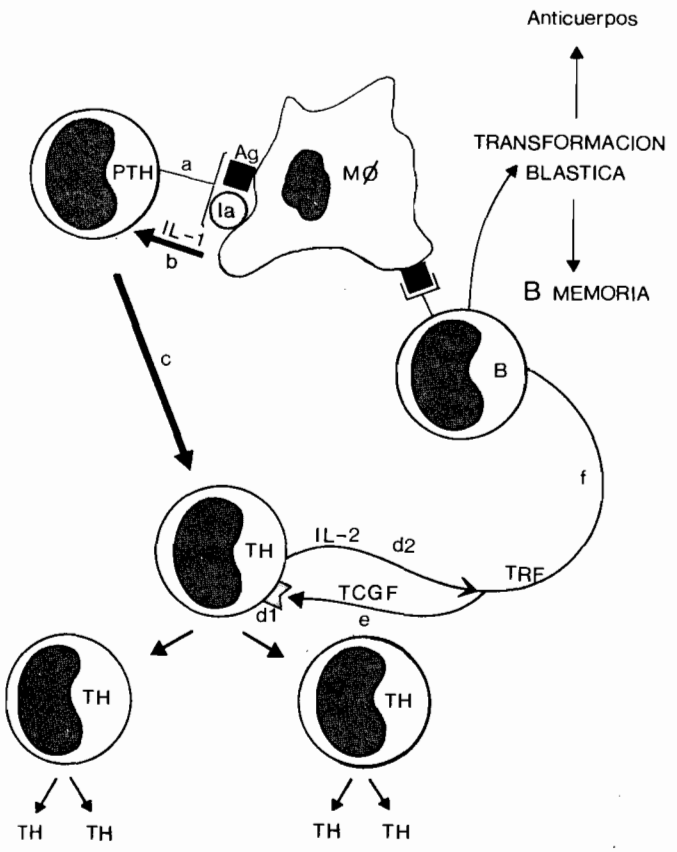


Fig. 19-9. Interrelaciones entre los macrófagos y las células T y B y entre éstas (v. texto).

El proceso de colaboración sigue las siguientes etapas (fig. 19-9): *a)* en primer lugar, un precursor del linfocito T_H (PTH) se une al antígeno y al antígeno Ia; de este proceso surge un reconocimiento que determina *b)* la activación del macrófago con la producción de la interleukina 1 (antes monkina) que hace *c)* que el precursor del linfocito T_H se convierta en T_H efector o activado. Esta diferenciación va acompañada de dos fenómenos, por un lado, d_1) la expresión de un receptor en su superficie para la interleukina 2 y, por otro, d_2) la producción de este propio mediador. La interleukina 2 parece ser una mezcla de varios factores: *e)* uno de ellos, el factor de crecimiento de las células T (TCGF), permite una expansión clonal de las células T_H y *f)* otro, el factor de sustitución de las células T (*cell replacing factor*, TRF), diferencia las células B antígeno-específicas en células plasmáticas secretoras de inmunoglobulinas, por contacto con el antígeno unido al macrófago. Este proceso, en realidad, debe ser más complejo, e intervienen varios tipos de linfocitos T_H y probablemente otros mediadores.

La intervención de los linfocitos T_H en la producción de anticuerpos es necesaria para la mayoría de los antígenos. Sin embargo, en un limitado tipo de ellos no es necesaria su presencia. En el primer caso estamos ante los antígenos timo-dependientes que determinan la aparición de células B de memoria. En el segundo caso se trata de los antígenos timo-independientes, que pueden ser de tipo I y II; el tipo I tiene, además, capacidad mitógena para los linfocitos B. Estos antígenos determinan la aparición de IgM y no dan células de memoria. Por lo tanto, no hay respuesta secundaria, y su producción en animales recién nacidos no se afecta por la timectomía.

En la regulación de la respuesta inmune es necesario que haya un efecto *feedback*. Así, ambos tipos de respuesta son suprimidos por la intervención de los linfocitos T_S. Aunque su mecanismo de acción es mal conocido, se sabe que actúan al menos por dos tipos de factores supresores solubles, que son específicos del *carrier* antigénico y poseen antígeno Ia.

Interrelaciones entre células T

Son muy complejas al existir entre las cuatro subpoblaciones, que actúan como efectores y reguladores (fig. 19-10).

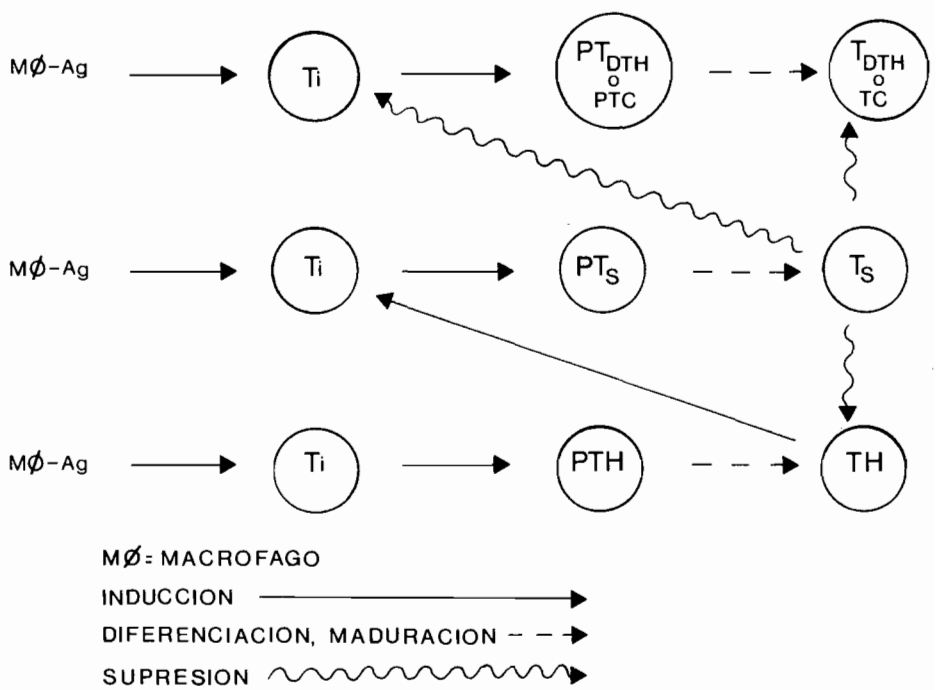


Fig. 19-10. Interrelaciones entre las distintas subpoblaciones de linfocitos T. (Modificado de Parks, D. E., y Chisari, F. V.: Hematology, 3.ª ed., 1983.)

La presencia o ausencia del antígeno determina la puesta en marcha o no de la respuesta celular, pero la duración y magnitud de ésta se encuentran en relación precisamente con las interacciones existentes entre las subpoblaciones T.

Para la activación de cualquiera de las 4 subpoblaciones es necesaria la estimulación antigénica de un linfocito T inductor (Ti) antígeno-específico, que actuará sobre los distintos precursores (PT) antígeno-específicos, convirtiéndolos en linfocitos efectores antígeno-específicos activados, que establecen múltiples relaciones de estimulación o supresión.

SISTEMA LINFATICO-ORGANOS LINFATICOS

Este sistema funcional engloba todos los órganos y tejidos que albergan linfocitos, así como las células de este tipo que circulan por la sangre y linfa.

La medula y la corteza del timo son los órganos linfopoyéticos primarios en los mamíferos adultos. Estos tejidos suministran un aporte continuo de células diferenciadas maduras, a través de un proceso de proliferación celular independiente de la presencia del Ag. Las células individuales producidas por estos órganos son inducidas a responder a un antígeno único, pero no desarrollan totalmente su inmunocompetencia hasta que no se estimulan adecuadamente por este antígeno. Desde estas localizaciones emigran a áreas linfopoyéticas secundarias (tejidos linfáticos periféricos), donde continúa la linfopoyesis. La proliferación celular en los tejidos periféricos es predominantemente el resultado de una estimulación antígeno-específica.

Nivel de origen

Está constituido por las células *stem*. Se caracterizan porque son automantenedoras o perdurables. Dan lugar a todas las células implicadas directa o indirectamente en los fenómenos inmunitarios y al conjunto de las series hemáticas. Se conocen también por células madre o células primordiales. Son indiferenciadas y pluripotenciales.

Tienen su origen en el saco vitelino, donde radican en el período embrionario. Durante la etapa fetal emigran transitoriamente al hígado, para al final de este período y después del nacimiento asentarse de forma definitiva en la medula ósea. Estas tres localizaciones constituyen el nivel de origen del sistema linfático. En el adulto, aunque en menor cantidad, las células *stem* también se encuentran en la sangre y en el bazo.

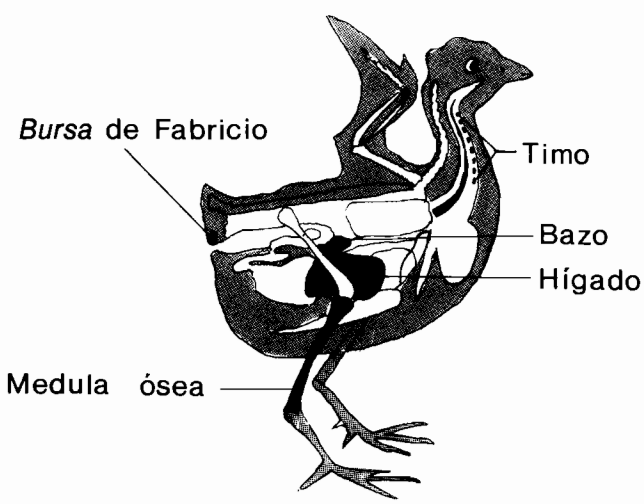


Fig. 19-11. Localización de los órganos linfáticos centrales (timo y *bursa* de Fabricio) en las aves. (Tomado de Volk, W. A., 1982.)

Hasta alcanzar los elementos maduros, que constituyen el final de las distintas series celulares, las células *stem* sufren una serie de diferenciaciones, que las orientan hacia distintas líneas, pero que a la vez restringen sus capacidades. Así, hay una primera diferenciación que se traduce en la aparición de células *stem* hematopoyéticas y linfopoyéticas. Las células *stem* hematopoyéticas, en su segundo estadio de diferenciación, se transforman en células *stem* trombopoyéticas, eritropoyéticas y mielopoyéticas, que tras sucesivas etapas diferenciadoras van a dar lugar a las plaquetas, hematíes, granulocitos y macrófagos.

Las células *stem* linfopoyéticas van a originar los linfocitos B y T. Las circunstancias que determinan las distintas etapas de diferenciación de las células *stem* no son conocidas, y lo mismo ocurre con la adquisición de la inmunocompetencia por las células *stem* linfopoyéticas.

Nivel central

Está constituido por los órganos linfáticos primarios o centrales que abarcan el timo, en todos los casos, y la *bursa* de Fabricio en las aves (fig. 19-11) (o estructuras equivalentes en los mamíferos).

Hace años, experimentando con ratones y pollos recién nacidos, se comprobó que hay dos tipos de órganos diferenciadores de la respuesta inmunitaria. La extirpación de la *bursa* en los pollitos determinaba la incapacidad de éstos para formar anticuerpos, mientras que la ablación del timo en ambas especies eliminaba la capacidad de respuesta inmune celular y afectaba, en algunos aspectos, la respuesta humoral. Este último hecho, como ya se ha visto, se produce con determinados antígenos (antígenos timo-dependientes), debido a una cooperación celular entre los linfocitos T y B. En el hombre se ha comprobado también la intervención del timo en la respuesta celular, pues en afecciones de este órgano ésta se altera.

La función de los órganos linfáticos centrales consiste en producir en los linfocitos una proliferación, diferenciación y capacitación. En estos tejidos existe una proliferación celular constante, independiente de la presencia de antígenos; por influencias propias y no externas se produce una diferenciación y capacitación de los linfocitos. Así, los timo-dependientes adquirirán una serie de marcadores y responderán a un antígeno específico, produciendo células específicamente sensibilizadas. Por otro lado, los *burso*-dependientes tendrán marcadores superficiales diferentes y producirán anticuerpos específicos para un determinado inmunógeno.

Las células producidas, diferenciadas, pero inmaduras, aunque tienen la capacidad de responder a un determinado antígeno, no se hacen inmunocompetentes, hasta que éste las estimula de forma adecuada, y emigran a los órganos linfáticos periféricos donde colonizan áreas *burso* o timo-dependientes según su origen. Así, los órganos centrales gobiernan la estructura, función y desarrollo de los periféricos o secundarios.

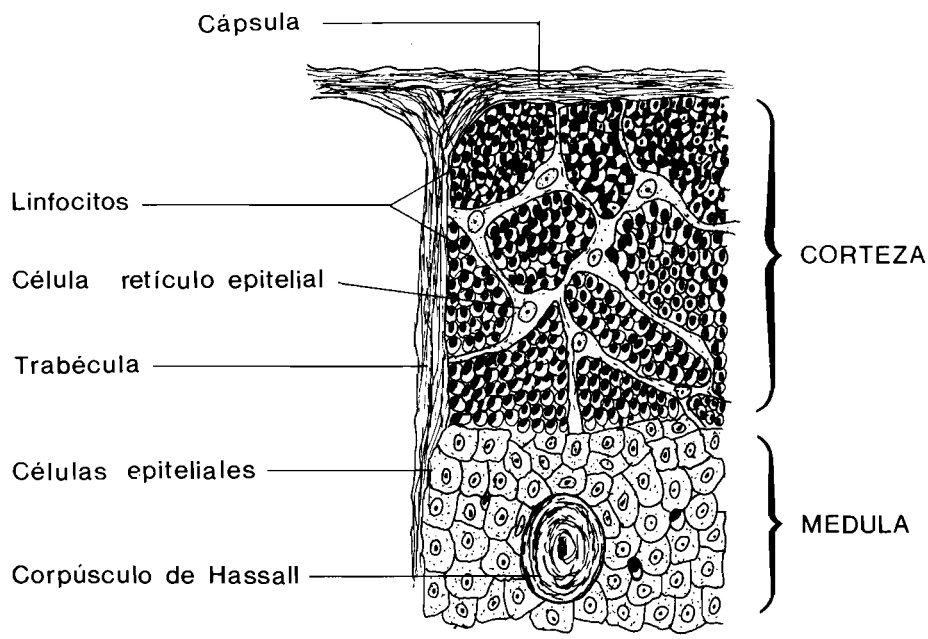


Fig. 19-12. Estructura del timo.

Timo

Está situado en el mediastino anterosuperior, por delante de la tráquea, en el origen de los grandes vasos. Consta de dos lóbulos, divididos a su vez en otros múltiples más pequeños. Histológicamente (fig. 19-12) es un órgano linfoepitelial, y las células epiteliales son las que sustentan su estructura. Consta de dos zonas claramente diferenciadas: la corteza y la medula. La cortical está rodeada por una cápsula conjuntiva, de la que parten unas prolongaciones de igual naturaleza hacia el interior, las trabéculas. En estas estructuras existen vasos sanguíneos. La zona cortical está formada fundamentalmente por células linfáticas inmaduras, que se sitúan entre una malla de células epiteliales reticulares.

La estructura de la medula es básicamente epitelial, y estas células a veces se agrupan concéntricamente formando los corpúsculos tímicos de Hassall, cuya misión se desconoce. En esta zona existe una considerable cantidad de linfocitos.

El timo deriva del tercer y cuarto arcos branquiales y alcanza su máximo desarrollo al nacer o poco después. Hasta la pubertad sigue creciendo, aunque en proporción inversa. Después inicia la involución y disminuye de tamaño, de forma que en la senectud se encuentra totalmente atrófico, y aparecen sólo cúmulos de grasa.

Las células *stem* linfopoyéticas dan lugar en el siguiente paso de maduración a las células *stem* inmunorreactivas T y B. Entre el 5 y 10 % de las células linfáticas de la medula pertenecen al primer tipo.

Las células *stem* inmunorreactivas T abandonan la medula ósea y son las encargadas de colonizar por vía hemática la cortical tímica. En la corteza, estas células *stem*, también llamadas protimocitos o células pretímicas vírgenes, se dividen rápidamente y se transforman en un tipo de linfocitos T, denominados timocitos (timocitos corticales), que a medida que maduran emigran a la zona medular (timocitos medulares). Cuando los timocitos medulares han madurado totalmente, abandonan este órgano para circular por sangre y linfa y colonizar las zonas timo-dependientes de los órganos linfáticos periféricos. Aunque, como ya se ha señalado, los linfocitos T abandonan el timo para emigrar a otras áreas, es necesario señalar que la mayoría de los timocitos procedentes de la intensa actividad linfopoyética cortical son destruidos dentro del timo en un plazo que oscila entre 3 y 5 días. A lo largo de este proceso de evolución madurativa, las distintas células que definen cada estadio se diferencian entre sí por la adquisición o pérdida de distintos determinantes antigénicos superficiales, que sirven de marcadores y ya han sido analizados antes.

La proliferación, diferenciación y capacitación, que se llevan a cabo en el timo, se deben a la influencia del microambiente interno que favorece estas misiones. Probablemente, la constitución de la membrana de las células epiteliales desempeñe su papel, así como la acción de hormonas polipeptídicas producidas por las células epiteliales de este órgano. Debido a estos mecanismos, los linfocitos T llegan a manifestar la reactividad inmunológica celular, que llevan determinada genéticamente. Otra de las funciones del timo está en relación con el conocimiento de lo que es propio. Se cree que la intensa destrucción de timocitos, que ocurre en este órgano, se debe a que estas células son las que, de no destruirse, reaccionarían con los antígenos propios.

La timosina es una de las hormonas implicadas en la maduración de los timocitos. Su producción se ha demostrado en el hombre y otros animales, y se ha comprobado que determina la aparición de los marcadores superficiales en linfocitos T. Se han descrito otras hormonas, la timopoyetina, el factor de diferenciación de los timocitos, etc.

Bursa de Fabricio

Es un órgano existente en las aves y se localiza cerca de la cloaca (fig. 19-11). Está formado por una invaginación, en forma de saco, de la pared intestinal. Es de naturaleza linfoepitelial y está constituido por un epitelio pseudoestratificado con folículos linfáticos. Su extirpación en pollos recién

nacidos conduce a la incapacidad para producir anticuerpos. Esto determinó que se conociera su importancia en la diferenciación de los linfocitos efectores de la respuesta humoral, que, por ello, han recibido el nombre de linfocitos B o *burso*-dependientes. Las células *stem* inmunorreactivas B se diferencian aquí funcionalmente y en cuanto a la adquisición de marcadores en linfocitos B.

En los mamíferos no existe *bursa* de Fabricio, y la medula ósea es su equivalente. En ésta se diferencian las células *stem* inmunorreactivas B o precursores de los linfocitos B en células preB que maduran a células B, bien en esta localización o en los órganos linfáticos periféricos. Los factores que determinan esta diferenciación no son bien conocidos, y parece ser que se debe al microambiente propio de la medula ósea o *bursa* de Fabricio. En el hombre, antes de nacer cumple la misma misión el hígado fetal.

Nivel periférico

Está constituido por los órganos linfáticos periféricos o secundarios. Bajo este epígrafe se engloban el bazo, ganglios linfáticos, nódulos linfáticos del tipo de las placas de Peyer y del anillo linfático de Waldeyer, y estructuras linfáticas difusas existentes en el tubo digestivo, aparato respiratorio y tracto genitourinario. Existen cúmulos linfocitarios en la lámina propia de la tráquea e intestino delgado y en la mucosa vaginal.

Histológica y funcionalmente se caracterizan porque su componente linfocitario no está formado por un solo tipo de linfocitos, sino por los dos. No obstante, ambas poblaciones linfocitarias están perfectamente separadas en estructuras histológicamente precisas y fácilmente diferenciables. Estas áreas perfectamente delimitadas, según sus componentes, se denominan timo o *burso*-dependientes. Sus elementos provienen del timo o de la medula ósea y desde estos lugares llegan por vía sanguínea a infiltrar estas zonas de los órganos linfáticos periféricos. Además de linfocitos T y B, poseen macrófagos fijos y móviles.

Por lo que respecta a sus funciones, actúan como filtros antigénicos, misión que se explica fácilmente por dos circunstancias. Primero, por su situación, ya que están localizados en lugares estratégicos, de máximo peligro potencial para el hombre, al tratarse de lugares habitualmente seguidos por la invasión microbiana. En segundo lugar, esta función se lleva a cabo fácilmente, porque, como ya se ha señalado, en los órganos linfáticos periféricos existen macrófagos.

El hecho de actuar de filtros condiciona que los antígenos se acumulen y localicen a su nivel y, como existen linfocitos T y B y macrófagos, se explica fácilmente su función en la respuesta inmune. En estos lugares es donde mejor se dan las circunstancias que permiten las interrelaciones entre macrófagos y linfocitos T y B y entre estas dos poblaciones linfocitarias, que se traducen en la aparición de células plasmáticas y linfocitos T efectores activados. Por todo ello, los órganos linfáticos periféricos constituyen el nivel de respuesta del sistema inmune.

Ganglios linfáticos

Se sitúan en la conjunción de vías linfáticas principales. Como también poseen irrigación hemática, son de igual modo lugares de unión entre vasos sanguíneos y linfáticos.

Estructuralmente (fig. 19-13) constan de una cápsula, debajo de la cual existe un seno subcapsular. Ambas estructuras envuelven dos zonas claramente diferenciadas: una externa o cortical y una interna o medular. La zona más profunda de la corteza se denomina paracortical. La linfa fluye a través de los linfáticos aferentes, se vierte en el seno subcapsular y a través de un flujo centrípeto sale por el linfático eferente, que directamente o a través de otros ganglios vierte en los grandes vasos linfáticos y de aquí a la sangre. La irrigación sanguínea se realiza a través del hilio. Los linfocitos T ocupan el área paracortical y los B, los folículos linfáticos primarios o secundarios. Los primeros se transforman en los segundos tras el estímulo antigénico. Las células plasmáticas, que aparecen en las zonas germinales e interfoliculares, se sitúan posteriormente en la medula. Las células de memoria producidas salen por el linfático eferente y se distribuyen por todo el organismo. Tras la penetración del antígeno, los folículos primarios se rodean por linfocitos T y macrófagos y se estimulan los linfocitos B, que al dividirse determinan la aparición de los centros germinativos característicos de los folículos secundarios; las células plasmáticas aparecen 1 semana después del estímulo.

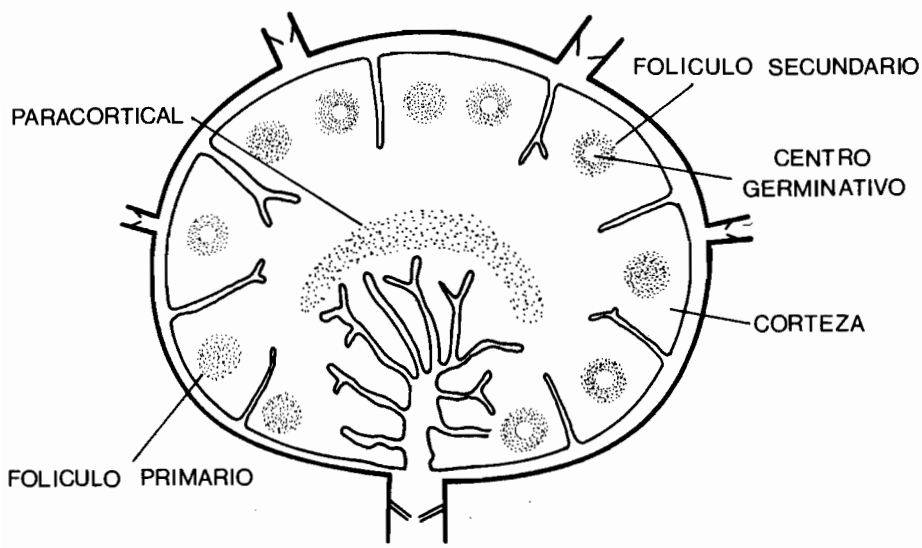


Fig. 19-13. Estructura de un ganglio linfático.

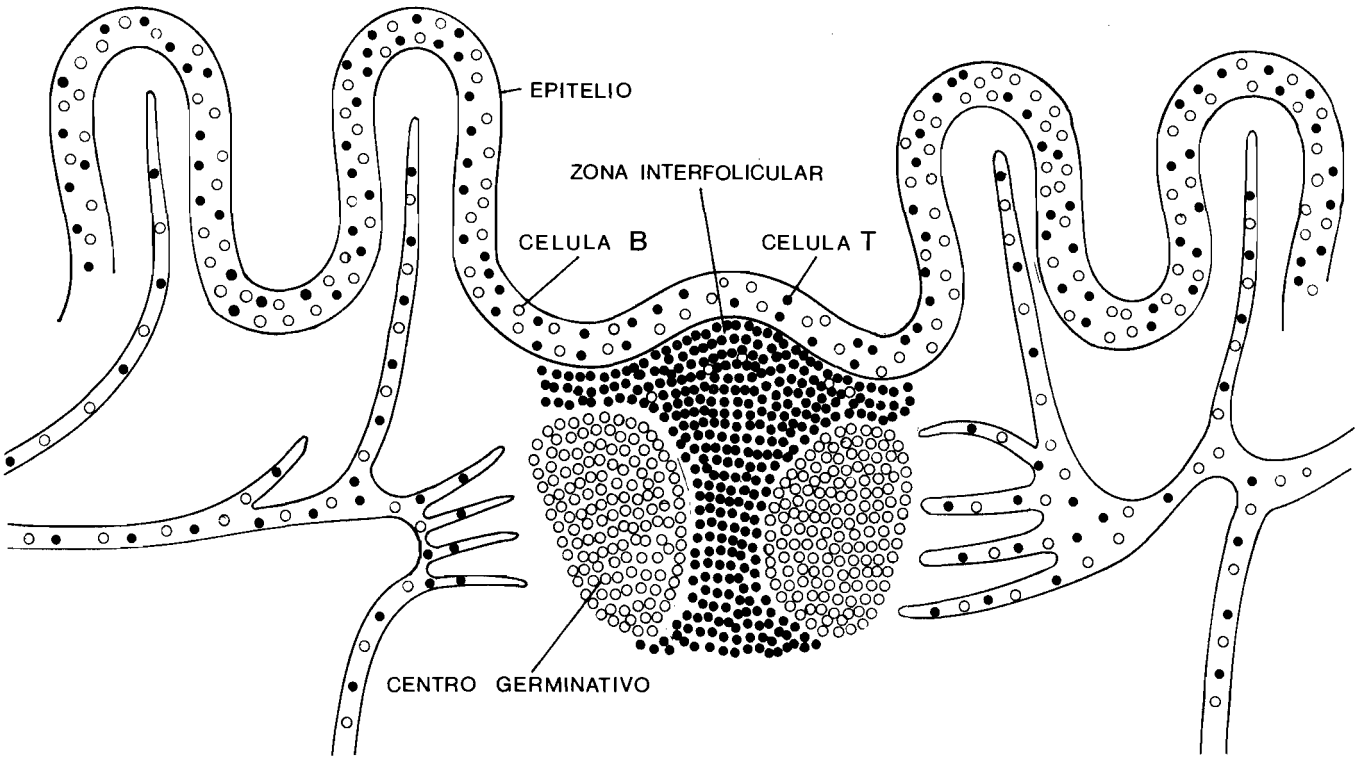


Fig. 19-14. Estructura de una placa de Peyer. [Tomado de Souza, M.: Tiempos Médicos, 228, 43, 1983.]

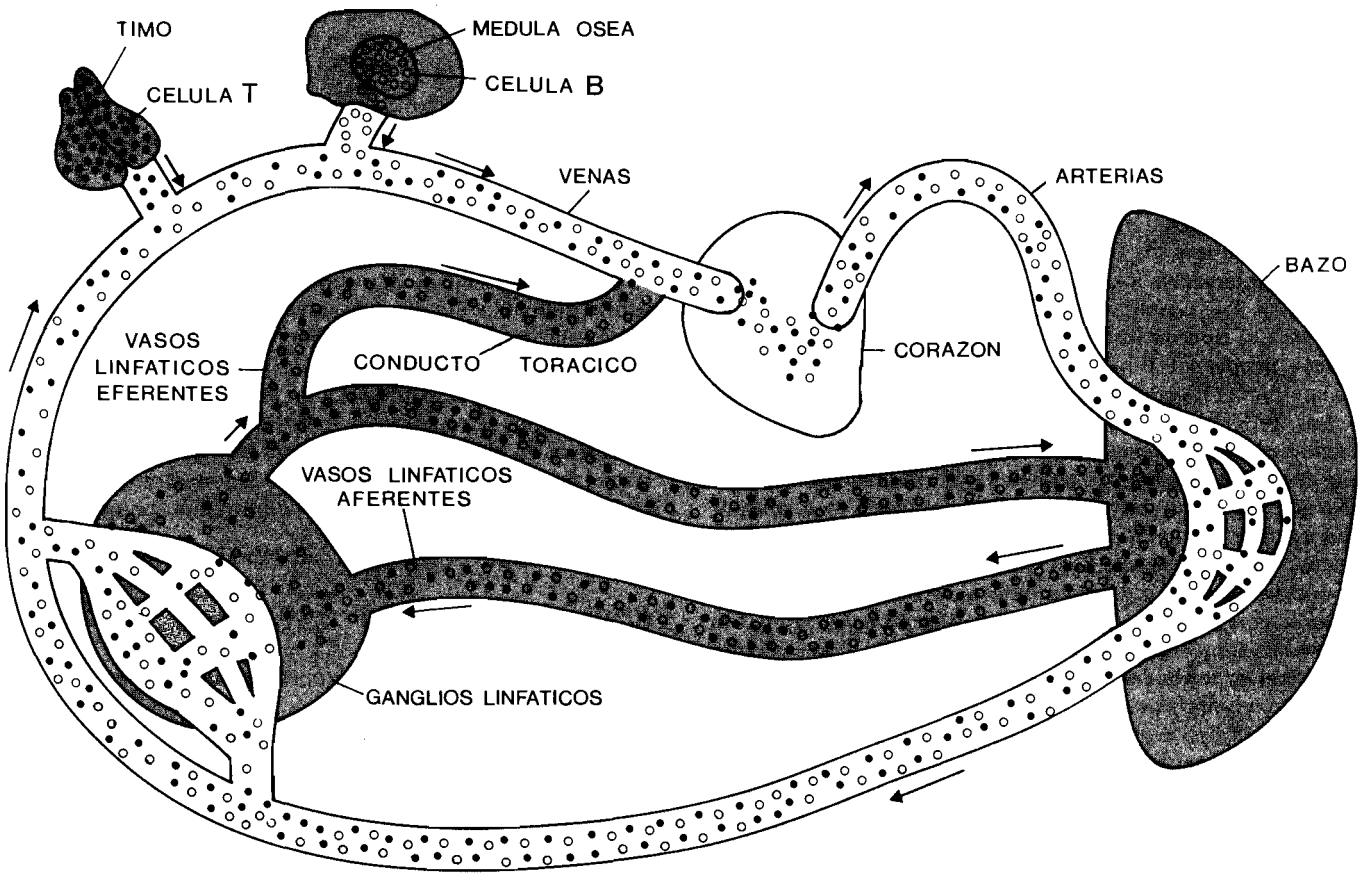


Fig. 19-15. Circulación linfocitaria. (Tomado de Souza, M.: Tiempos Médicos, 228, 43, 1983.)

Bazo

Es un órgano más complejo, dado que en él se realizan funciones hemáticas e inmunológicas. En esta última vertiente interviene fundamentalmente en la síntesis de anticuerpos frente a antígenos vehiculados por sangre.

Estructuralmente consta de dos zonas, denominadas pulpas roja y blanca. En la primera hay sangre rica en hematíes y en la segunda, linfocitos y macrófagos. En esta última, los linfocitos T junto con los macrófagos se encuentran en las vainas linfáticas periarteriolares. Los B se detectan en los folículos linfáticos, que tras la estimulación antigénica se transforman en secundarios con los centros germinativos característicos. Las células plasmáticas se sitúan en la pulpa roja.

Placas de Peyer (fig. 19-14)

Los linfocitos B se encuentran en los folículos linfáticos con sus correspondientes centros germinales. Los T se hallan en las zonas interfoliculares y en la cúpula.

Circulación linfocitaria

Los linfocitos son células que tienden a moverse por el organismo a través de la sangre y la linfa, y no permanecen fijos en los órganos linfáticos periféricos. Los linfocitos T tienen una tendencia a recircular, mucho mayor que los B; lo hacen, además, más rápidamente y recorren más órganos y tejidos, debido a que tienen una vida media mayor. Los B poseen una vida media corta, si se exceptúan las células de memoria. En la sangre periférica predominan los L_T, con un 70-80 % sobre los L_B (10-20 %). En el conducto torácico, la mayoría de los linfocitos son del tipo T. La gran tendencia de los linfocitos T a recircular de sangre a linfa y viceversa les permite ponerse en contacto con cualquier órgano o tejido.

El primer movimiento (fig. 19-15) lo inician los linfocitos al abandonar la medula y el timo, para ir por vía sanguínea a colonizar los órganos linfáticos periféricos a través de los cuales pueden pasar a la linfa.

Como ejemplo, se describe a continuación el movimiento de un linfocito T a partir de un ganglio linfático. Esta célula ha podido llegar a este órgano a través de un linfático aferente o directamente desde la sangre para colonizar la zona paracortical. La afluencia de linfocitos es particularmente intensa en el curso de la estimulación antigénica. Este linfocito T abandona la zona paracortical y el ganglio a través del linfático eferente u otros ganglios o directamente alcanza los grandes vasos linfáticos y de éstos va a la sangre; entonces puede llegar a cualquier zona del organismo. Por medio de arteriolas puede alcanzar de nuevo un ganglio y a través del epitelio cúbico de la vénula poscapilar extravasarse para colonizar la zona paracortical. Aquí permanece un tiempo indeterminado para reemprender posteriormente un nuevo ciclo de movimiento.

Respuesta celular

Esta vertiente de la inmunidad viene definida porque la respuesta al antígeno inductor se realiza mediante células específicamente sensibilizadas, que actúan de forma directa o por secreción de mediadores inespecíficos, las linfoquinas. En su desarrollo intervienen dos poblaciones celulares, los macrófagos y los linfocitos T. De éstos participan todas las subpoblaciones, los T_H y T_S como moderadores y los T_C o T_K y los T_{DTH} como efectores.

Según el tipo de linfocito efector que intervenga, la respuesta puede ser fundamentalmente citotóxica (T_C o T_K), inflamatoria (T_{DTH}) o mixta.

Los antígenos que dan lugar a este tipo de inmunidad, como es lógico pensar, son timo-dependientes. También entra dentro de la lógica el suponer que estos antígenos puedan poner en marcha una respuesta humoral regulada por linfocitos T. En ambos casos, los antígenos suelen ser proteicos. La respuesta celular es más fina que la humoral, al reconocer no sólo los determinantes antigénicos, sino también el portador o *carrier* de éstos. Así, por ejemplo, si un animal es sensibilizado con un hapteno unido a un determinado *carrier*, no habrá respuesta celular si se lleva a cabo una segunda inoculación con el mismo hapteno unido a un *carrier* distinto. Aunque los antígenos timo-dependientes pueden ser comunes para la respuesta humoral y celular, ciertas características pueden ser diferentes, en parte, para estos últimos. En este caso suelen ser antígenos presentes en las membranas de células enteras, propios o fijados, en la pared celular de bacterias y hongos, o bien productos químicos sencillos que se unen a las proteínas cutáneas o productos solubles liberados por bacterias. Es necesario puntualizar que las bacterias que intervienen son aquellas que tienen capacidad de vivir y multiplicarse intracelularmente en los macrófagos. Entre éstas se encuentran *M. tuberculosis, M. leprae, S. typhi, Brucella, F. tularensis* y *L. monocytogenes*.

En relación con el tipo antigénico y fundamentalmente con la subpoblación efectora involucrada, la inmunidad celular está implicada, por un lado, en la inmunidad celular antitisular, como la que aparece en el rechazo del aloinjerto, en la inmunidad antitumoral y en la respuesta frente a células infectadas por virus que mantienen en su superficie los antígenos de éstos, y, por otro, en la inmunidad celular antimicrobiana, que se manifiesta como fenómenos de hipersensibilidad retardada o celular, sensibilización por contacto o reacciones granulomatosas.

CINETICA DE LA RESPUESTA CELULAR

Bajo este epígrafe se engloban todas las fases que se suceden entre la penetración del antígeno, por primera vez o repetidas veces, y la interacción con él de las células sensibilizadas, y los efectos producidos por esta interacción. Esta respuesta tiene dos vertientes: aferente y eferente. En la primera se analizan las interacciones que acontecen entre las distintas células participantes, que conducen a una activación antígeno-específica. En la segunda se consideran los efectos resultantes de la interacción del antígeno con las cé-

lulas específicamente sensibilizadas, por acción directa o por liberación de mediadores que actúan inespecíficamente (linfoquinas).

Rama aferente

El proceso comienza (fig. 19-16) con la captación, procesamiento y presentación del antígeno por parte de los macrófagos. La intervención de los macrófagos es imprescindible, pues sin ellos no se pone en marcha la respuesta inmune y, por otro lado, pueden bloquearla.

La fase siguiente es la del reconocimiento del antígeno, que se realiza por un tipo del linfocito T_H, el linfocito T inductor (Ti). Este reconoce en el macrófago a la vez el antígeno y el antígeno Ia, que debe ser el propio, como se ha dicho. Los receptores presentes en la membrana del linfocito T que cumplen estas misiones aún no se conocen.

A causa de este reconocimiento o por el procesado del antígeno, el macrófago produce la interleukina 1 que actúa sobre el Ti determinando su proliferación y la liberación de la interleukina 2. Esta actúa sobre los linfocitos precursores de T_C o T_{DTH}, que, al unirse al antígeno, han desarrollado receptores para ella. Por último, la interleukina 2, unida a los linfocitos precursores, induce la transformación blástica, la proliferación y la aparición de células de memoria y de T_C y T_{DTH} maduros. En la respuesta secundaria (fig. 19-17), todo este proceso, que normalmente requiere alrededor de 5 días, se realiza en horas, porque el Ti actúa no sobre un linfocito precursor, sino sobre una célula memoria (T_C o T_{DTH}). Los linfocitos T_S, mediante la producción de mediadores solubles, actúan sobre los inductores y efectores suprimiendo la respuesta.

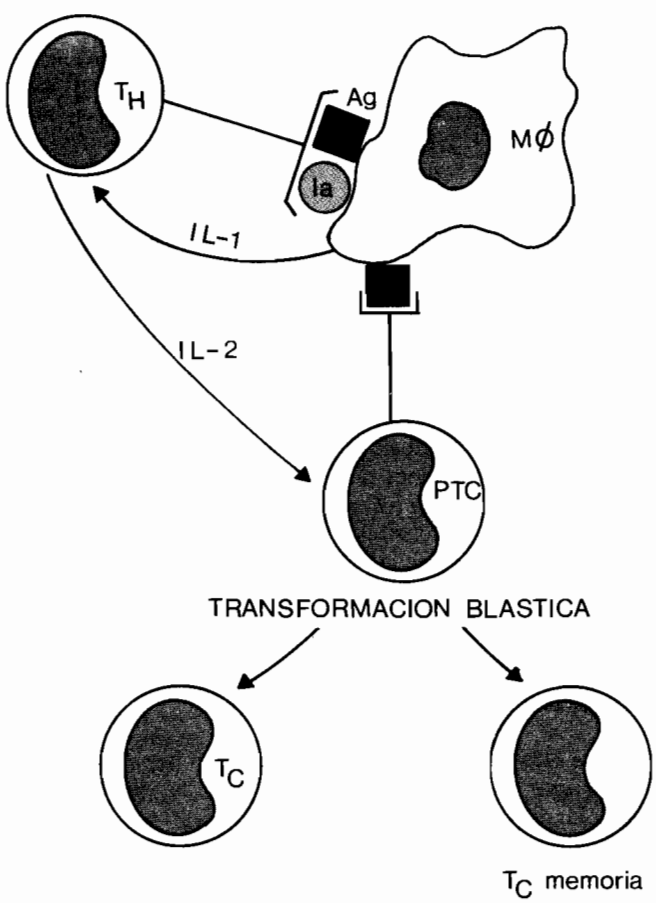


Fig. 19-16. Rama aferente de la inmunidad celular. En el esquema se muestra la intervención de un linfocito T citotóxico (T_C).

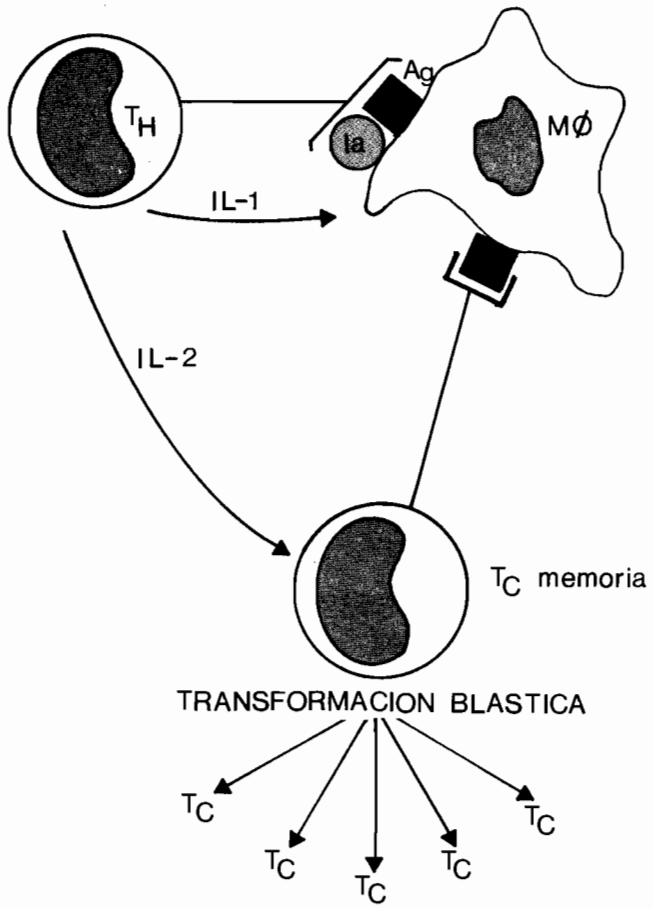


Fig. 19-17. Rama aferente de la inmunidad celular, en la que interviene un linfocito memoria, lo que determina una respuesta mayor.

Rama eferente

Acción citotóxica

En la inmunidad antitisular, es decir, cuando los linfocitos efectores son los T_C o T_K, los antígenos son células que tienen en su superficie antígenos propios o fijados no reconocibles. El final de la respuesta se traduce por la lisis celular. Es un proceso que filogenéticamente parece haberse desarrollado para destruir las células propias, que adquieren antígenos superficiales, considerados extraños. Interviene en la inmunidad tumoral, en la destrucción de células infectadas por virus, en cuya superficie quedan los antígenos de éstos, en el rechazo al aloinjerto y en las reacciones del injerto frente al huésped. En los dos primeros casos, la reacción citotóxica sólo se pone en marcha en células compatibles, es decir, se precisa reconocer, además de los antígenos extraños, los antígenos de histocompatibilidad propios, en concreto los HLA-A y B (restricción HLA). En los dos últimos supuestos, los antígenos son precisamente los del complejo mayor de histocompatibilidad y a veces los menores.

En la inmunidad tumoral probablemente intervenga otro tipo de respuesta como la intervención de las células *null* NK. En el caso de las infecciones por virus, la citólisis desempeña un importante papel, pues, al lisar las células, no deja completar el ciclo del virus. Se ha observado entre otros en infecciones por el virus gripal, herpes, sarampión, Sendai, Epstein-Barr, etc. El rechazo del aloinjerto aparece en distintos tipos de trasplantes; en el de riñón es importante como antígeno el D, mientras que en los cutáneos lo son los HLA-A y HLA-B. Las reacciones del injerto frente al huésped aparecen en enfermos con anemia aplásica, leucemias, etc., a los que se hace un trasplante de medula, de tal forma que los linfocitos de ésta reaccionan contra los tejidos del huésped. Este tipo de reacción es mixta, pues también intervienen los linfocitos T_{DTH} y las linfoquinas producidas por ellos.

El mecanismo de la lisis mediada por células es exquisitamente específico, sin que intervengan anticuerpos o complemento. Es un proceso mal conocido, pero parece requerir las siguientes etapas (fig. 19-18):

1. *Interacción célula-célula.* La unión directa entre el T_C y la célula diana es imprescindible. La adhesión necesita iones divalentes fundamentalmente Mg^{++}.

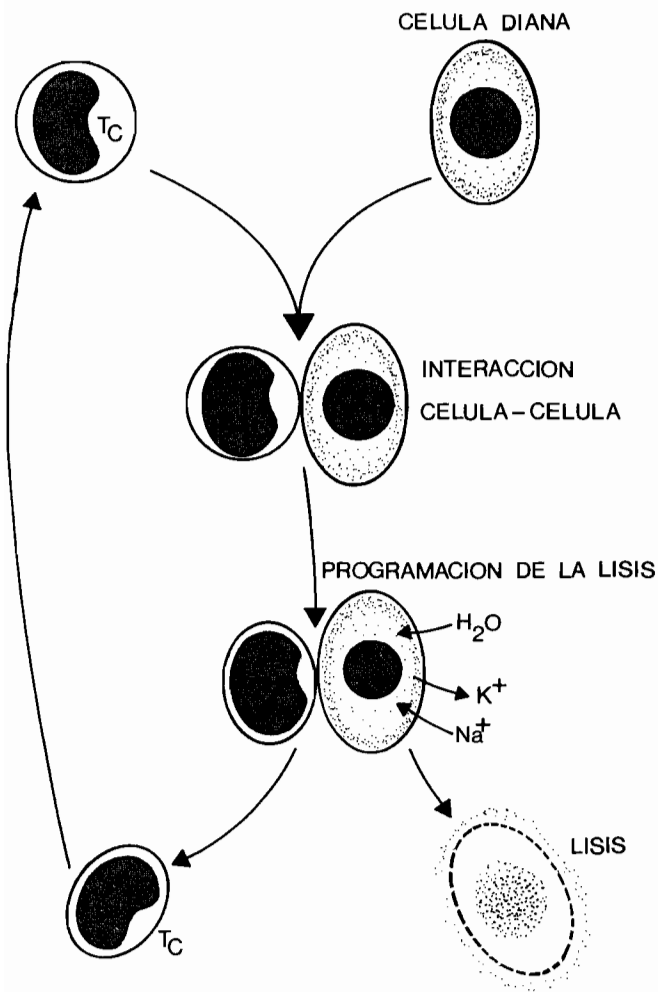


Fig. 19-18. Mecanismo de la citotoxicidad antígeno-específica. (Tomado de Volk, W. A., 1982.)

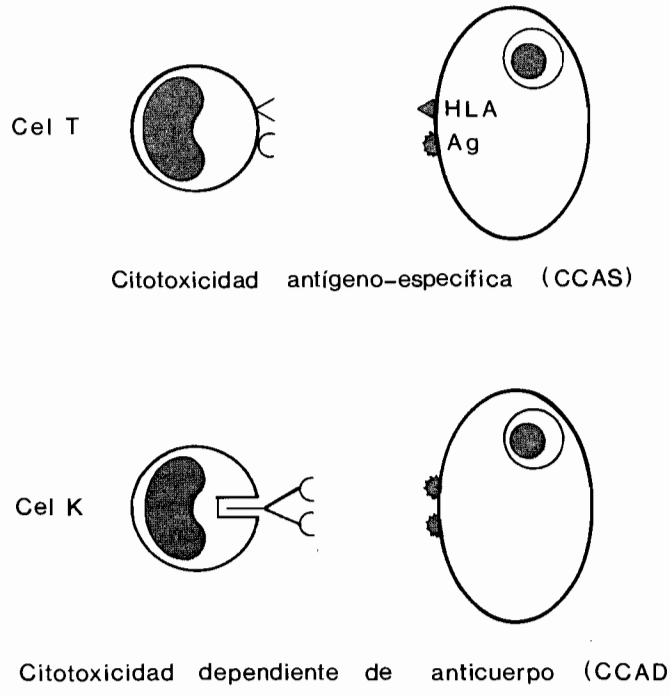


Fig. 19-19. Mecanismos de citotoxicidad.

2. *Programación de la lisis.* Se realiza poco después de la unión. Los fármacos que aumentan la concentración intracelular de AMPc inhiben la lisis, pero se desconoce su papel. Existen alteraciones de la permeabilidad; penetra H_2O y Na^+, y sale K^+.

3. *Lisis.* Una vez sensibilizada la célula diana, la lisis continúa, aunque se libere la célula T_C. De hecho, una vez completada la lisis, ésta puede continuar su marcha lítica hacia nuevas células.

Aparte este mecanismo, existen otros procedimientos de citotoxicidad (fig. 19-19):

1. La citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos. Este tipo se realiza por células *null killer* (K), macrófagos y neutrófilos, que poseen receptores para la Fc. Por ello es necesario que la célula diana esté rodeada por anticuerpos específicos. Es un proceso en el que no participa el complemento.

2. Citotoxicidad natural. Se lleva a cabo por los linfocitos *null* NK. No se requieren anticuerpos, complemento ni sen-

sibilización previa, y se desconoce el mecanismo preciso por el que se produce. Destruye células tumorales e infectadas por virus, y su actividad se incrementa con el interferón.

Acción mediada por linfoquinas. Inmunidad antimicrobiana mediada por células

Aparece cuando las células efectoras son los T_{DTH}, que responden específicamente al antígeno con la producción de unos mediadores que actúan inespecíficamente y se conocen con el nombre de linfoquinas. Estas actúan sobre los macrófagos, linfocitos, neutrófilos y otras células y, aparte, pueden producir reacciones inflamatorias e interferón. Sus tipos, características y mecanismo de acción se analizan detenidamente en el capítulo de hipersensibilidad.

La acción de las linfoquinas provoca los fenómenos de hipersensibilidad celular o retardada y los de inmunidad celular antimicrobiana. Las reacciones de hipersensibilidad aparecen en la piel y están producidas por antígenos solubles elaborados por bacterias o de naturaleza química simple, como en la dermatitis por contacto (veneno de hiedra, mercurio, cosméticos, etc.), que se convierten en antígenos al unirse con proteínas de la piel; su aparición no implica la existencia de una inmunidad protectora.

La inmunidad antimicrobiana mediada por células implica la existencia de una resistencia y aparece frente a bacterias intracelulares y hongos. La defensa celular en las infecciones víricas es, como ya se ha señalado, fundamentalmente por citotoxicidad. En la inmunidad celular, mediante las linfoquinas se pretende aumentar la capacidad defensiva de los macrófagos y de otras células. Histológicamente, la hipersensibilidad e inmunidad celulares tienen patrones con características diferenciales. Así, las reacciones de hipersensibilidad son más difusas e intensas y de menor duración. Esto probablemente se debe a que el antígeno es soluble y se elimina rápidamente. En la inmunidad, el antígeno es persistente y se libera lentamente, y los macrófagos son inducidos a su eliminación efectiva y a bloquear su extensión. Si la fuente de antígeno es muy intensa, se constituye un gran granuloma y puede observarse una necrosis central.

La capacidad citotóxica y la de producir linfoquinas pueden ser transferidas con linfocitos o con extractos de ellos.

EVALUACION DE LA RESPUESTA CELULAR

La situación funcional del sistema inmune celular se valora mediante una serie de pruebas, en las que se comprueba la capacidad de respuesta de los linfocitos T y el recuento total y de las diversas subpoblaciones.

Pruebas in vivo

La evaluación se realiza mediante pruebas de intradermorreacción, valorando la hipersensibilidad retardada o de base celular. Se emplean antígenos obtenidos de diversos microorganismos. También se pueden emplear sustancias químicas del tipo del dinitroclorobenceno. Los distintos tipos de antígenos microbianos se analizan en el capítulo de hipersensibilidad.

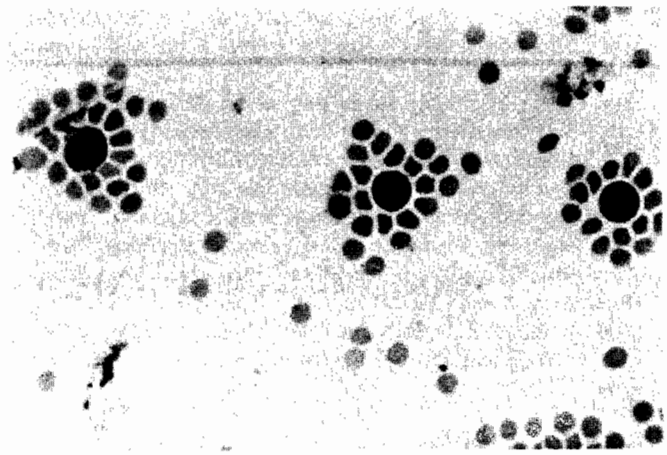


Fig. 19-20. Formación de rosetas de hematíes de carnero por los linfocitos T. (Cortesía del Servicio de Hematología del Hospital Clínico Universitario de Salamanca.)

La existencia de una reacción positiva no implica necesariamente resistencia, sino que indica simplemente que ha habido un contacto previo, próximo o lejano en el tiempo. El mayor valor de estas pruebas es cuando se constata una positivización.

Prueba in vitro

1. Formación de rosetas (fig. 19-20). Con esta técnica se pretende hacer un recuento global de linfocitos T en sangre periférica. Se valora la capacidad de formar rosetas, que tienen estos linfocitos cuando se ponen en contacto con hematíes de carnero. Es una prueba que se influye mucho con las condiciones ambientales.
2. Transformación linfoblástica. Se valora esta capacidad específica. Se realiza con mitógenos inespecíficos, como la fitohemaglutinina o concavalina, que son capaces de estimular toda la población linfocitaria. Se puede hacer de for-

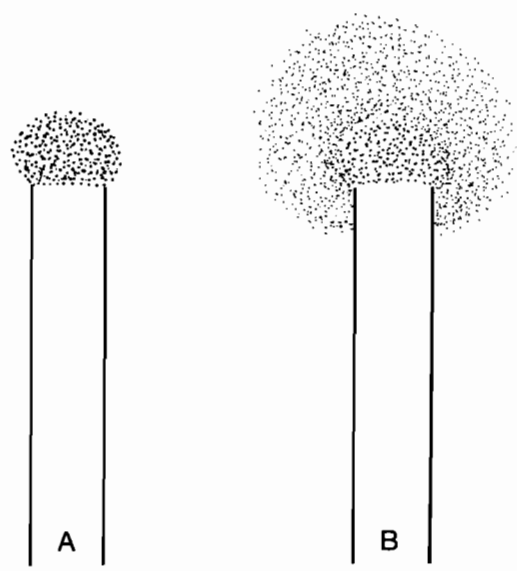


Fig. 19-21. Test de inhibición de la migración de los macrófagos. A) Prueba positiva. B) Prueba negativa.

ma específica, con un antígeno, pero es difícil, pues hay pocos linfocitos T sensibilizados frente a un determinado antígeno.

3. Test de inhibición de la migración de los macrófagos (fig. 19-21). En esta prueba se valora la capacidad de producir la linfoquina, denominada «factor inhibidor de la migración de los macrófagos». Se puede efectuar de dos formas, directa o indirecta. La primera se realiza tomando leucocitos de la sangre periférica o del exudado peritoneal de un animal sensibilizado, que se introducen en un tubo capilar. Este tubo se coloca en un medio de cultivo celular, donde en condiciones normales los macrófagos tienden a salir. Ahora bien, la adición del antígeno sensibilizante inhibe la salida.

En la forma indirecta se toman linfocitos de un sujeto tuberculín-positivo y se incuban con tuberculina. Después se toma el sobrenadante y se añade a un tubo capilar, que contiene macrófagos peritoneales de cobayo. Si se produjo MIF, éstos no saldrán del tubo.

Técnicas para identificar la población T y sus subpoblaciones

El antígeno específico de los linfocitos T humanos (ALTH) se puede poner de manifiesto por inmunofluorescencia con sueros de cobayo o conejo específicos. Los antígenos «T» puestos de manifiesto con los anticuerpos OKT se demuestran con anticuerpos monoclonales empleando técnicas de inmunofluorescencia y, en algunos casos, de inmunohistología. Técnicas idénticas se emplean para poner de manifiesto otros antígenos con otros anticuerpos monoclonales. Todos estos anticuerpos existen comercializados.

BIBLIOGRAFIA

Fougereau, M., y Dausset, J. (dirs.): Immunology 80. Academic Press, London, 1980.

Fudenberg, H. H.; Stites, D. P.; Caldwell, J. L., y Weles, J. V.: Basic and Clinical Immunology, 3.ª ed. Lange Medical Publications, Los Altos, 1980.

Holborow, E. J., y Reeves, W. G. (dirs.): Immunology in Medicine, 2.ª ed. Grune and Stratton, London, 1983.

Myrvik, Q. N.: Cell Mediated Immune Responses. En Clutt, L. E., y Jhonson, J. E. (dirs.): Clinical Concepts of Infectious Diseases, 3.ª ed., 44-51. Williams and Wilkins, Baltimore, 1982.

Sinkovics, J. G., y Dreesman, G. R.: Monoclonal antibodies of hybridoman. Rev. Infect. Dis., 5, 9-34, 1983.

Samter, M. (dir.): Immunological Diseases, 3.ª ed. Little, Brown, Boston, 1978.

Van Furth, R.: Mononuclear Phagocites. Functional Aspects. Martinus Nijhott, Den Haag, 1980.

Volk, W. A.: Essentials of Medical Microbiology. 2.ª ed. J. B. Lippincott, Philadelphia, 1982.

Williams, W. J.; Beutler, E.; Erslev, A. J., y Lichtman, M. A. (dirs.): Hematology, 3.ª ed. McGraw Hill, New York, 1983.

COMUNIDAD DE MADRID - BIBLIOTECA POPULAR PETRO

Capítulo 20

Respuesta humoral: anticuerpos e inmunoglobulinas

Antonio Rodríguez-Torres

La respuesta inmunitaria humoral se caracteriza por la aparición de sustancias denominadas *anticuerpos* (Ac) capaces de reaccionar con los Ag que desencadenaron su producción. Se trata de globulinas plásmaticas, que, precisamente por su actividad anticuerpo, se conocen genéricamente como *inmunoglobulinas* (Ig). En muchas circunstancias, los términos de Ig y Ac son superponibles y, obviamente, todos los Ac son Ig. Sin embargo, las Ig incluyen moléculas cuya actividad Ac se desconoce, aunque teóricamente cualquier Ig mostrará dicha función cuando se identifique el Ag que le corresponde.

La respuesta humoral es una función de los linfocitos B y de sus células derivadas, las células plasmáticas, que son precisamente las secretoras de inmunoglobulinas. Esto no obsta para que, tanto en la iniciación como en la regulación de la respuesta, intervengan otros tipos de células, cuya cooperación resulta necesaria.

Las Ig comprenden un grupo heterogéneo de proteínas que constituyen aproximadamente un 20 % de las proteínas plasmáticas totales. En la separación electroforética se localizan en las γ-globulinas y, en menor proporción, en las β-globulinas. Se encuentran igualmente en los líquidos extravasculares y en las secreciones orgánicas. Además, las Ig se detectan ligadas a la membrana celular de las células B y en el interior de su citoplasma.

En el hombre se conocen 5 clases de inmunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. La asociación de los anticuerpos a una u otra clase de Ig depende de diversos factores, algunos no completamente aclarados. Sin embargo, se sabe que influyen decisivamente la especie animal, la naturaleza del Ag, la vía de administración y el momento de la inmunización.

Las diferentes Ig se caracterizan por sus propiedades físico-químicas, sus propiedades antigénicas y sus funciones biológicas. La individualización de las cinco clases de Ig se ha realizado por inmunoelectroforesis, una técnica en la que se consideran conjuntamente la movilidad electroforética y la especificidad antigénica.

Atendiendo exclusivamente a alguna de sus propiedades físico-químicas, se delimitaron hace ya bastantes años dos grandes grupos de anticuerpos, los asociados a moléculas de un coeficiente de sedimentación 19S con un peso molecular aproximado de 900.000 (las IgM) y los asociados a moléculas de un coeficiente 7S con un peso molecular aproximado de 150.000 (las restantes Ig). Estas propiedades y, por supuesto, todas las demás, dependen de la estructura y composición química de las diferentes Ig, que empezaron a estudiarse intensamente a finales de los años 50. En la década de los 80 se puede afirmar que la estructura de las moléculas Ig se conoce con gran precisión.

Al ser proteínas de elevado peso molecular, las Ig son al mismo tiempo excelentes Ag. Las Ig de una especie animal inyectadas a un animal de otra especie despiertan la producción de Ac anti-Ig. Además de este poder inmunógeno, del que están dotadas por ser Ag específicos de especie, las Ig presentan entre sí diferencias en su antigenicidad, que son de tres órdenes. Por una parte, diferencias que definen las diversas clases (y también las subclases y tipos de las cadenas polipeptídicas) y están presentes en todos los individuos de la misma especie *(isotipos)*. Por otra parte, especificidades diferentes asociadas a determinantes antigénicos presentes sólo en algunos individuos de la especie *(alotipos)*, y, finalmente, especificidades relacionadas con su condición de Ac dirigidos a un epitope concreto *(idiotipos)*.

Las propiedades biológicas de las Ig son muy variadas y diferentes en las distintas clases y subclases, pero todas las moléculas de Ig presentan una característica biológica común de capital importancia; son *moléculas bifuncionales*. En efecto, ejercen dos tipos de funciones independientes: *función de reconocimiento del Ag* y *funciones efectoras*, determinadas por porciones distintas de la molécula. Dos moléculas de Ig pueden reconocer el mismo Ag y manifestar funciones efectoras diferentes, y a la inversa.

Métodos de estudio

La determinación de la estructura de las Ig sólo ha sido posible mediante la utilización combinada y sucesiva de diferentes técnicas físicas, bioquímicas e inmunológicas. Los avances en este campo han corrido paralelos a los avances de la biología molecular, utilizando las nuevas tecnologías que aquéllos han hecho posibles.

La gran heterogeneidad de las Ig presentes en un individuo normal hace muy difícil, cuando no imposible, la determinación de sus secuencias y estructura espacial. A pesar de ello, los primeros datos detallados se obtuvieron en laboriosas experiencias con Ig heterogéneas. Utilizando Ac específicos purificados mediante el uso de inmunoabsorben-

tes, la heterogeneidad disminuye sin desaparecer. Pero los grandes avances en el conocimiento de la estructura de las Ig sólo se consiguieron tras el análisis de las *Ig monoclonales* sintetizadas en el curso de los *mielomas* en gran cantidad (hasta 10 g/l). En dichos procesos tumorales, una célula productora de Ac prolifera de forma desordenada dando lugar a una descendencia o clon, cuyos elementos sintetizarán Ig completamente homogéneas.

En el hombre, el mieloma múltiple o plasmocitoma es una enfermedad bastante frecuente, que se diagnostica precisamente por la detección de la Ig monoclonal, que puede pertenecer a cualquier clase. En el ratón se inducen con alguna facilidad plasmocitomas por inyección de aceite mineral en la cavidad peritoneal. Estos mielomas pueden trasplantarse a animales singénicos o cultivarse *in vitro* en línea continua. De esta forma, se logra una gran cantidad de Ig monoclonal de forma indefinida.

El único inconveniente de las Ig monoclonales reside en que de ordinario se desconoce su especificidad Ac. Este inconveniente se subsana en la producción de mielomas híbridos por fusión (hibridomas, v. más adelante).

Las Ig son proteínas globulares que están formadas por varias cadenas polipeptídicas, para cuya separación se precisa una acción reductora. El estudio de los polipéptidos se realiza por diversos métodos cromatográficos. Para el conocimiento de la estructura multicatenaria y porciones biológicamente activas han sido decisivas las experiencias de fragmentación por enzimas proteolíticas. El estudio de la secuencia primaria de las cadenas requiere también una fragmentación previa de tipo enzimático, el aislamiento y purificación de los péptidos y su ulterior secuenciación. El análisis de las homologías entre diferentes péptidos se hace comparando los aminoácidos presentes en cada posición. El conocimiento de la estructura tridimensional, previsto con alguna de las técnicas citadas, se ha confirmado por métodos físicos, entre los que destaca el análisis cristalográfico con rayos X.

Por último, desde el descubrimiento de las endonucleasas de restricción y la introducción de los métodos de hibridación del ADN, se ha abordado el estudio de la base genética responsable de la compleja estructura de las Ig, que hasta entonces permanecía en el terreno especulativo.

ESTRUCTURA DE LAS INMUNOGLOBULINAS

Cadenas. Cuando se tratan las moléculas policatenarias de las Ig por agentes reductores se consigue la disociación de los puentes disulfuro intercatenarios que puedan existir, pero las cadenas siguen unidas por fuerzas no covalentes. Sólo si, además, se rebaja el pH y se filtra por Sephadex, se obtiene su aislamiento. Por este método se demostró que las Ig están siempre formadas por dos tipos de cadenas:

1. *Cadenas pesadas* o *H (heavy)*, cuyo peso molecular oscila entre 50.000 y 70.000.
2. *Cadenas ligeras* o *L (light)*, cuyo peso molecular es de 23.000.

Las cadenas están unidas entre sí por puentes disulfuro (intercatenarios), que unen entre sí dos residuos cisteína y cuyo número varía entre las diferentes Ig. Desempeñan un importante papel en la estabilidad de la molécula y algunas otras propiedades. Dentro de cada cadena existen igualmente puentes disulfuro (intracatenarios), que forman bucles de 60-70 aminoácidos y contribuyen al establecimiento de una conformación tridimensional globular de la correspondiente región del péptido, que afecta unos 110 aminoácidos y se llama *dominio*.

Cualquier molécula de Ig está formada por lo menos por dos cadenas H y dos cadenas L. Estas cuatro cadenas polipeptídicas constituyen la *unidad básica* de Ig $(HL)_2$ o monómero.

Fraccionamiento. El tratamiento de las moléculas de IgG por diversas enzimas proteolíticas permite obtener fragmentos dotados de distintas propiedades biológicas y precisar aspectos relativos a la funcionalidad de la molécula.

Mediante el tratamiento con *papaína*, en presencia de un agente reductor como la cisteína, se obtienen tres fragmentos:

Dos fragmentos idénticos que siguen conservando la propiedad de unirse al Ag. Se denominan *Fab (fragment antibody binding)*. Son univalentes y no precipitantes, y cada uno está constituido por una cadena L y la mitad aproximadamente de una cadena H.

Un fragmento no dotado de capacidad Ac, denominado *Fc* (fragmento cristalizable), compuesto por la mitad aproximadamente de las dos cadenas pesadas.

El tratamiento con *pepsina*, en ausencia de cisteína, libera un fragmento Ac, bivalente y precipitante, denominado *F(ab)2*. Corresponde a los dos fragmentos Fab obtenidos con la papaína, unidos entre sí por la conservación de puentes disulfuro entre ambas cadenas H; de hecho, la posterior actuación de un agente reductor libera dos Fab. La pepsina libera también varios segmentos polipeptídicos, que corresponden a la desintegración del fragmento Fc.

La acción de la *tripsina* durante corto tiempo libera, por su parte, fragmentos semejantes a los obtenidos con papaína. Por actuación prolongada degrada la molécula en pequeños péptidos trípsicos.

Además de los fragmentos Fab, F(ab)2 y Fc ya descritos, se ha denominado fragmento *Fd* la porción de cadena pesada (media cadena) existente en el fragmento Fab, cuya intervención en la unión con el Ag es muy importante.

El tratamiento proteolítico de otras Ig da lugar a la producción de fragmentos no necesariamente idénticos a los citados para las IgG, pero las partes de la molécula se denominan de la misma forma.

Unidad básica tetrapeptídica. En las figuras 20-1 y 20-2 se representan esquemáticamente la *unidad básica tetrapeptídica*, común a todas las inmunoglobulinas, y los fragmentos biológicamente importantes.

Determinadas clases de Ig se presentan en forma de dímeros, trímeros o pentámeros de la unidad básica e incorporan otras cadenas polipeptídicas (pieza J, pieza secretoria).

Estructura primaria y secundaria de las cadenas polipeptídicas

Se conoce actualmente con gran precisión la secuencia de aminoácidos de las cadenas de las Ig y su estructura secundaria. Lo más relevante, sin duda, es el extraordinario polimorfismo que muestran estas secuencias, único entre las

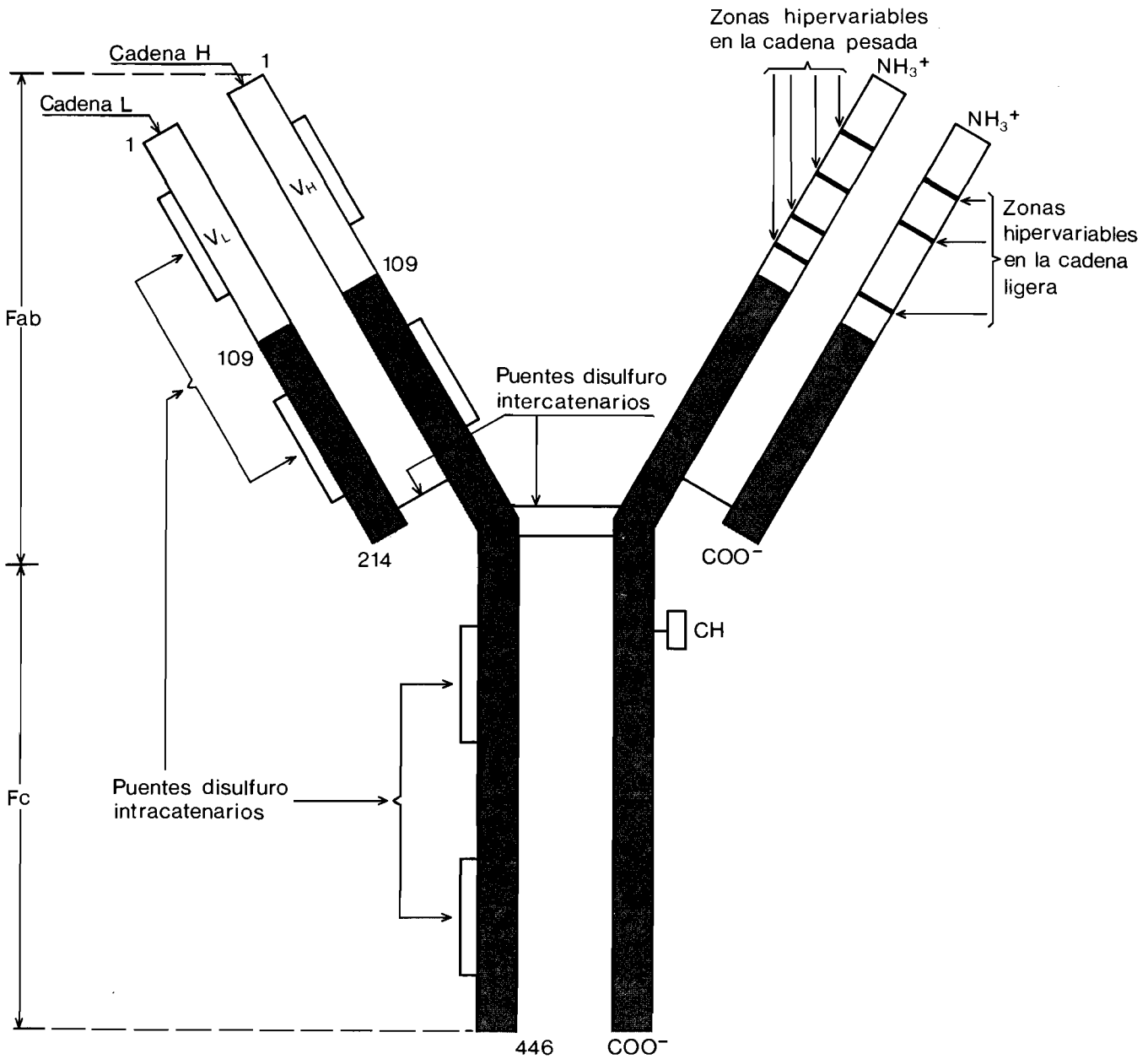


Fig. 20-1. Representación esquemática de la unidad básica tetrapeptídica de una Ig. (El modelo corresponde a una IgG_1.) Los residuos aminoácidos se numeran a partir del extremo aminoterminal. V y C, dominios; B, bisagra; CH, carbohidrato.

proteínas plasmáticas, que obedece a las peculiares funciones biológicas que deben cumplir las Ig. Las principales propiedades físico-químicas y antigénicas de las cadenas polipeptídicas de las Ig se resumen en la tabla 20-1.

Cadenas ligeras

Existen dos tipos de cadenas L, de un peso aproximado de 23.000 daltons, denominadas *kappa* (κ) y *lambda* (λ), que difieren en su secuencia y, por consiguiente, en su especificidad antigénica. Cada molécula de Ig, sea cual fuere su clase, tiene dos cadenas L iguales, κ o λ, en cada unidad básica o monómero. En el hombre, las cadenas κ están presentes aproximadamente en el 65 % de las moléculas de Ig y las λ, en el 35 %. Las proteínas de Bence-Jones, que aparecen en la orina de enfermos de mieloma múltiple, son cadenas ligeras.

Cada cadena ligera está formada por 214 residuos aminoácidos que se numeran desde su extremidad aminoterminal (fig. 20-3). Los primeros 108 residuos presentan una secuencia extraordinariamente variable, y no se han encontrado dos de estos segmentos idénticos entre los centenares de Ig estudiadas hasta el presente, mientras que la porción restante es prácticamente constante.

Región variable. La mitad aminoterminal se denomina región variable y se expresa V_L o, si se indica el tipo de cadena, V_κ o V_λ; en ella existe un puente disulfuro intracatenario.

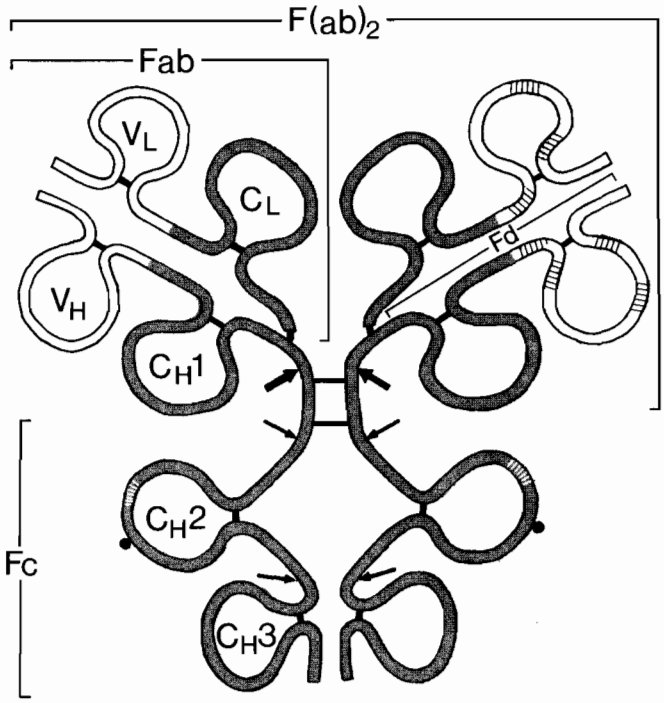


Fig. 20-2. Representación esquemática de la unidad básica tetrapeptídica de una Ig, que muestra los lazos formados por los puentes –S-S– intracatenarios, los puntos de actuación de las enzimas proteolíticas y los principales fragmentos. (El modelo corresponde a una IgG_1.) ═══, Regiones variables; ➡, lugar de actuación de la papaína; ▬▬, regiones constantes; ➡ lugar de actuación de la pepsina; ▥, áreas hipervariables; ●, carbohidrato; ▭ lugar de unión para C_{1q}.

Comparando la secuencia de aminoácidos de la región variable de múltiples cadenas L, se han identificado, tanto en κ como en λ, tres *áreas hipervariables*, que corresponden a pequeños segmentos de 7 a 11 aminoácidos, en los que la variabilidad es particularmente acentuada. La existencia del puente disulfuro contribuye a una configuración globular, en la que las áreas hipervariables pueden situarse próximas en el espacio. De esta forma, los aproximadamente 27 aminoácidos implicados en las áreas hipervariables intervienen, junto a los aminoácidos de áreas similares en la región variable de la cadena pesada, en la *zona combinante* con el Ag.

Comparando las secuencias de múltiples V_κ, V_λ y regiones variables de las cadenas pesadas (V_H) entre sí y al mismo tiempo con las secuencias de los otros grupos, se ha postulado la existencia de *subgrupos* en las regiones variables, que se definen por homologías en la posición de determinados residuos. El interés del estudio de los subgrupos V reside principalmente en que pueden indicar el número de genes para estas regiones. Sin embargo, los subgrupos propuestos (4 para V_κ y 6 para V_λ) son en cierto modo arbitrarios, puesto que su número depende de la cifra de sustituciones consideradas para definirlos.

Se ha demostrado que los aminoácidos situados en las posiciones 96 a 108 de la secuencia están codificados por genes distintos de los que codifican el resto de la región variable. Este segmento se denomina *J* y tiene gran importancia en la generación de la diversidad de los anticuerpos (v. más adelante).

Región constante. La mitad carboxiterminal de las cadenas L se denomina región constante (C_L, C_κ, C_λ). Existe también en ella un bucle por la presencia de un puente disulfuro.

La invariabilidad de la secuencia es notable, con una importante excepción en la posición 191 de C_κ, en la que la sustitución de Leu por Val constituye un importante marcador genético (alotipos Km o Inv).

La región constante de las cadenas κ es considerablemente distinta de la región constante de las cadenas λ, y existe únicamente un 40 % de homología entre ambas secuencias, lo que explica su diferente antigenicidad.

Tabla 20-1. Propiedades físico-químicas y antigénicas de las inmunoglobulinas humanas

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Coeficiente de sedimentación, S	7	7-14	19	7-8	8
Peso molecular	150.000	160.000* 400.000**	900.000	180.000	190.000
Movilidad electroforética	γ	γ rápida a β	γ rápida a β	γ rápida	γ rápida
Porcentaje de contenido de carbohidrato	3	8	11	13	12
Cadenas H					
Clases	γ	α	μ	δ	ε
Subclases	γ_1, γ_2, γ_3, γ_4	α_1, α_2	μ_1, μ_2	–	–
Alotipos	Gm(1)-(25)	Am(1)-(2)			
Peso molecular,	50.000-60.000	55.000	70.000	62.000	70.000
Cadenas L					
Tipos	κ o λ	κ o λ	κ o λ	κ o λ	κ o λ
Alotipos (κ)	Km(1)-(3)***	Km(1)-(3)	Km(1)-(3)	Km(1)-(3)	Km(1)-(3)
Peso molecular,	23.000	23.000	23.000	23.000	23.000
Pieza J (J)	–	+	+	–	–
Pieza secretoria (PS)	–	+	–	–	–
Número de unidades básicas	1	1, 2, 3	5	1	1
Fórmula molecular	$L_2\gamma_2$	$L_2\alpha_2$* $(L_2\alpha_2)2$-3 J $(L_2\alpha_2)2$ J, PS**	$(L_2\mu_2)_5$J	$L_2\delta_2$	$L_2\varepsilon_2$

* Monómero de IgA sérica.
** IgA secretoria.
*** Previamente denominados Inv.

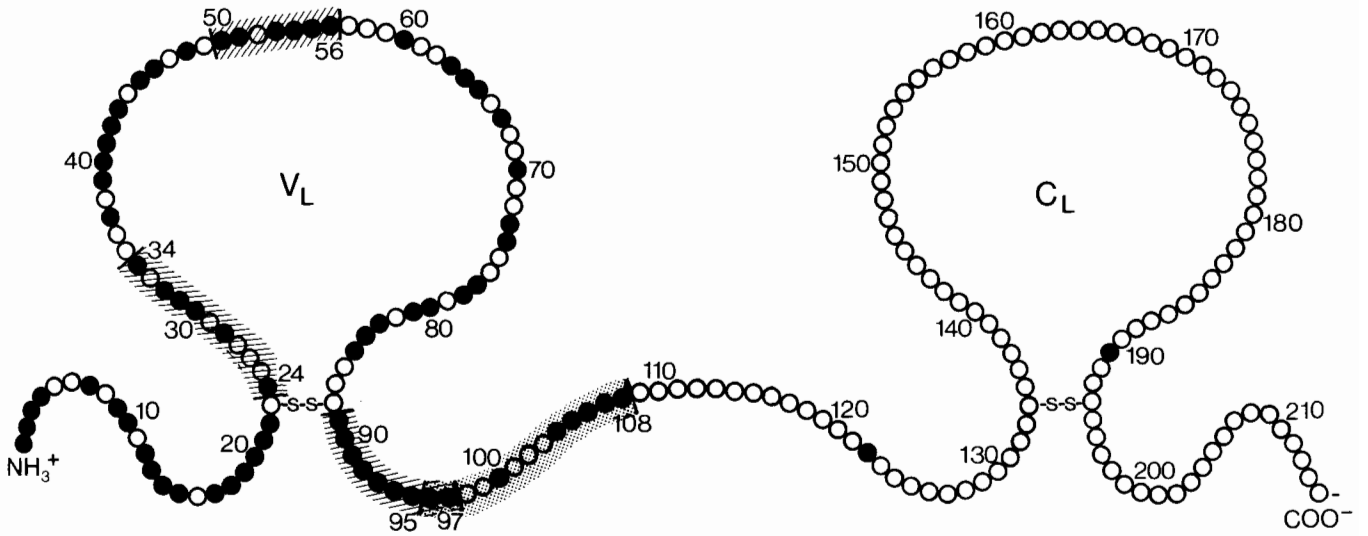


Fig. 20-3. Representación esquemática de una cadena ligera tipo κ. Los círculos expresan los residuos aminoácidos, que se numeran a partir de la extremidad aminoterminal. Los círculos blancos indican posiciones donde se encuentra siempre el mismo aminoácido y los oscuros, posiciones donde pueden encontrarse aminoácidos diversos. Las zonas rayadas indican áreas hipervariables y la zona punteada (96-108), el segmento codificado por el gen J. La posición 191 indica la localización de los alotipos Km (Inv).

El análisis de las secuencias C_κ muestra una considerable uniformidad, pero en C_λ se han identificado diferencias que han permitido establecer la existencia de 4 *subtipos* de cadena λ, en forma similar a como veremos que las subclases de Ig obedecen a la composición de la región constante de las cadenas H. Sin embargo, todos los tipos (C_κ y C_λ) y subtipos (C λ 1-4) se encuentran en cada subclase de Ig, en cuya definición no intervienen. Su importancia radica en que pueden indicar los genes alternativos para C_λ.

Cadenas pesadas

De acuerdo con su estructura primaria y, en consecuencia, su composición antigénica, se distinguen cinco clases de cadenas H, cada una de las cuales corresponde a una de las cinco *clases* de Ig. Se denominan, respectivamente, γ, α, μ, δ y ε.

Las IgG poseen cadenas pesadas γ, pero entre ellas pueden detectarse diferencias físico-químicas y serológicas, que permiten distinguir cuatro subclases, γ_1, γ_2, γ_3 y γ_4, que son las subunidades H de las *subclases* IgG_1, IgG_2, IgG_3 e IgG_4. En las IgA se han identificado dos subclases α_1 y α_2 (IgA_1 e IgA_2) y en las IgM otras dos, μ_1 y μ_2 (IgM_1 e IgM_2).

Todo lo dicho se refiere a las Ig humanas; en diversos animales, las clases y subclases conocidas y su nomenclatura no son necesariamente las mismas.

Las cadenas H tienen una secuencia polipeptídica formada por un número de aminoácidos que oscila entre 450 y 550 aproximadamente, con pesos moleculares de 50.000 a 70.000. Existen cuatro puentes disulfuro intracatenarios en las cadenas γ, α y δ y 5 en las μ y ε.

De forma similar a lo que se observa en las cadenas L, la porción aminoterminal de las cadenas H (figs. 20-1 y 20-2) muestra una secuencia de enorme variabilidad que constituye la *región variable* (V_H). El resto de la cadena hasta el extremo carboxiterminal presenta una secuencia prácticamente constante dentro de cada clase y subclase, formando la *región constante* (C_H), cuya longitud es tres (γ, α, δ) o cuatro (μ, ε) veces la de la región variable. Cuando se indica la clase o subclase C_H, se expresa con su indicativo particular (p. ej., Cμ; $C\gamma_3$).

Región variable. En la cadena H de las IgG está formada por los 108 aminoácidos de la porción aminoterminal. Los análisis de variabilidad de la secuencia han mostrado que en ella existen cuatro *áreas hipervariables*, influidas en su situación espacial por la presencia de un puente disulfuro intracatenario (figs. 20-1 y 20-2).

De forma similar a como se ha señalado para las cadenas L, el estudio de las homologías en la posición de determinados residuos ha permitido suponer la existencia de 4 subgrupos V_H, que podrían indicar los genes existentes.

Se ha demostrado que los aminoácidos situados en las posiciones 96 a 108 de la secuencia son codificados por genes distintos de los que codifican el resto de la región variable. A diferencia de lo que ocurre en V_L, parece que en V_H estos residuos se codifican no en uno, sino en dos genes separados, uno de ellos para las posiciones 102 a 108, denominado J (segmento J), y otro para las posiciones 96 a 101, denominado D (segmento D).

Región constante. En la región constante de las cadenas pesadas residen las diferencias físico-químicas y antigénicas que dan lugar a las clases y subclases de Ig. Los puentes disulfuro intracatenarios existentes en CH identifican dominios de unos 110 residuos aminoácidos, que, hacia la porción carboxiterminal, se denominan CH_1, CH_2 y CH_3 (en las cadenas μ y ε existe otra región CH_4).

Entre las regiones CH_1 y CH_2 existe un segmento de unos 15 aminoácidos, aunque puede incluir hasta 60 residuos, denominado *bisagra* (región *Hinge*), cuya estructura primaria es muy particular. La secuencia se caracteriza por la presencia de residuos cisteína y muy abundantes residuos prolina. Esta peculiar estructura confiere a la bisagra una gran flexibilidad y es la responsable de la existencia de

puentes disulfuro H-H a su nivel. Por otra parte, constituye una parte de la molécula de Ig fácilmente accesible a la acción de los agentes proteolíticos a los que es sensible.

En la región constante de la cadena pesada se localiza, con muy raras excepciones, la porción carbohidrato de las Ig, que son siempre glicoproteínas. Su cantidad varía según las clases y subclases y sus funciones son poco conocidas. Intervienen, probablemente, en la secreción de las Ig y en las funciones atribuidas a las regiones constantes de H.

También en la región CH se localizan determinadas especificidades alotípicas (Gm en Cγ y Am en Cα).

Pieza J

La *pieza* o *cadena J* es un pequeño glicopéptido, de unos 15.000 daltons, que interviene en las Ig poliméricas. Una sola pieza J se une por puentes disulfuro a las regiones constantes de las cadenas H de dos o tres monómeros (IgA) o de cinco monómeros (IgM). Su función parece residir únicamente en la estabilidad de estas formas poliméricas.

Pieza secretoria

Las moléculas de IgA en forma de dímeros, que se encuentran en las secreciones (IgA secretoria), incorporan, además de una pieza J, otra cadena polipeptídica, denominada *pieza secretoria* o pieza de transporte. Es un glicopéptido de un peso molecular próximo a 70.000, unido a las cadenas H por puentes disulfuro o enlaces no covalentes. La pieza secretoria protege la molécula de IgA secretoria contra la acción de las enzimas proteolíticas presentes en las secreciones.

Estructura de las diversas clases y subclases de Ig

En la figura 20-4 y en la tabla 20-1 se muestran las principales características estructurales de las diferentes Ig.

La estructura general de las IgG es la que se ha descrito en los apartados anteriores. Se presenta siempre en forma monomérica. Las diferentes subclases presentan entre sí algunas diferencias estructurales. La más importante se

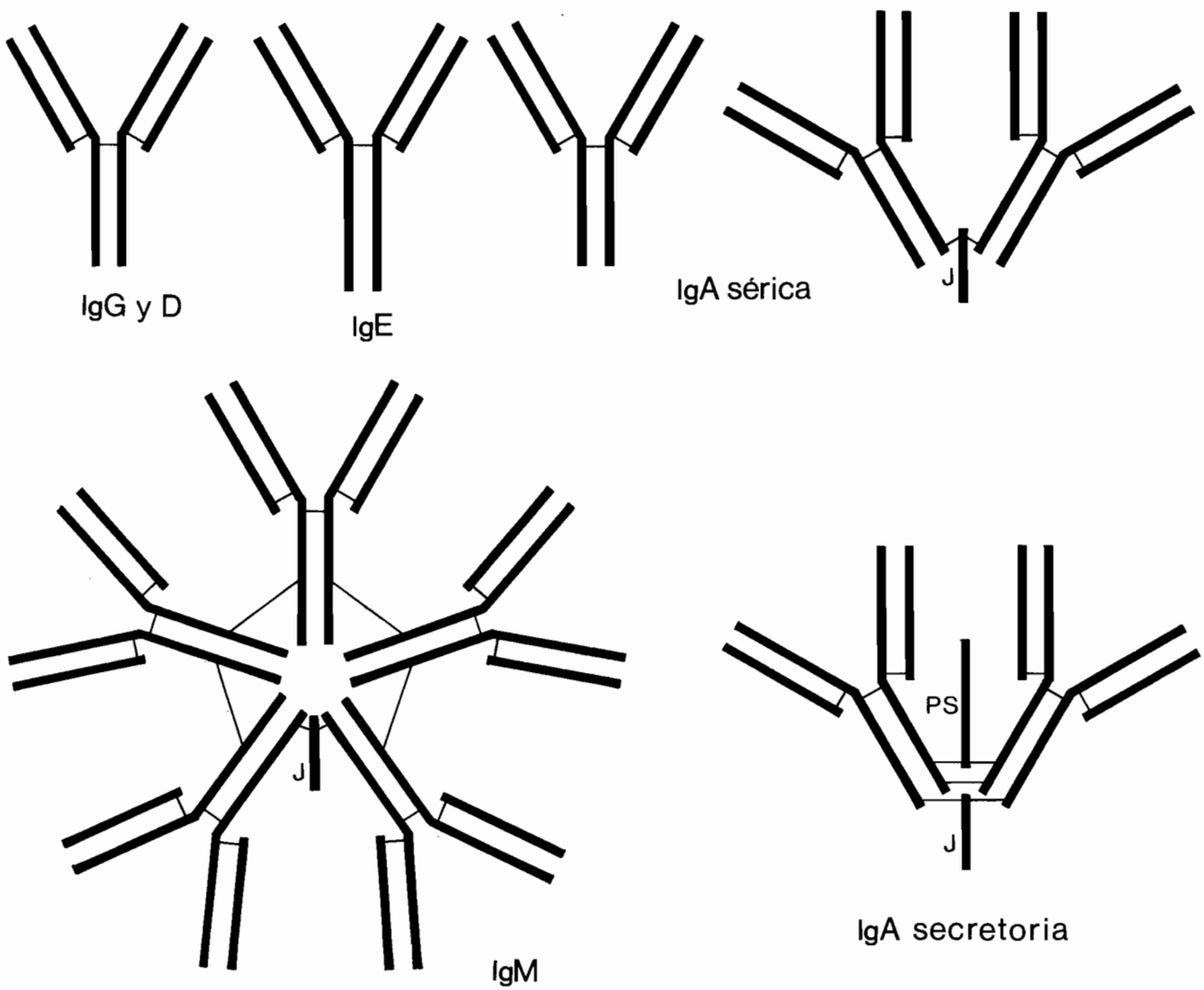


Fig. 20-4. Representación esquemática de la estructura monomérica y polimérica de las diferentes clases de Ig. J, pieza J; PS, pieza secretoria. (Los dímeros de IgA representados corresponden a IgA_1; las cadenas pesadas de IgM e IgE son mayores que las de las restantes Ig.)

refiere al número de puentes disulfuro intercatenarios H-H, que oscila entre 2 (IgG_1, IgG_4) y 13 (IgG_3). La subclase IgG_3 presenta un largo segmento bisagra con abundantes residuos cisteína, que explica tal cantidad de uniones covalentes. Estas diferencias en puentes intercatenarios explican algunas peculiaridades biológicas, como la diferente vida media y degradabilidad por enzimas proteolíticas.

La estructura de las IgA es diferente en el suero y en las secreciones. En el suero se presenta en forma monomérica o polimérica, y en este caso incorpora una pieza J. La IgA secretoria se presenta en forma de dímeros que incluyen una pieza secretoria. Con ello, el tamaño de IgA secretoria alcanza unos 400.000 daltons.

La IgM se encuentra en el suero en forma pentamérica con un peso molecular de 900.000. Sus cadenas pesadas son considerablemente largas con una región CH_4 que no existe en las anteriores Ig.

Por último, IgD e IgE son las menos conocidas estructuralmente. Se presentan en la forma monomérica básica. La cadena H de IgE tiene, como IgM, una región suplementaria CH_4.

Ig secretadas e Ig ligadas a la membrana

Las células B productoras de Ig presentan moléculas de Ig (Ig_{mem}), unidas a su membrana por el extremo carboxiterminal de sus cadenas H, que actúan como receptores específicos. La estructura de las Ig_{mem} es idéntica a la estructura de las Ig secretadas (Ig_{secr}) en cuanto se refiere a su especificidad. En el caso de las IgM, se conoce actualmente que la IgM_{mem} difiere de la IgM_{secr} por la presencia adicional de un pequeño péptido (21-26 aminoácidos) en el extremo carboxiterminal de las cadenas μ, el cual está compuesto por aminoácidos hidrofóbicos que explican el anclaje de la molécula de Ig en la membrana celular. Probablemente, las demás Ig_{mem} presentan parecidas peculiaridades estructurales.

Estructura tridimensional

La existencia de puentes disulfuro intracatenarios que establecen conformaciones globulares que afectan unos 110 aminoácidos, junto con la comprobación de homologías evidentes en la secuencia de aminoácidos de dichas regiones, ha sugerido que las Ig están formadas por diversos *dominios*, que se definen como conformaciones moleculares tridimensionales, constituidas por secuencias homólogas y efectoras de funciones biológicas particulares (*teoría de los dominios*).

En las cadenas L existen dos dominios (fig. 20-2), que se identifican con las regiones variable y constante (V_L y C_L). En las cadenas H, existe un dominio que se identifica con la región variable (V_H) y tres o cuatro dominios en la región constante (C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}, C_{H4}). Los dominios variables (V_L y V_H) presentan marcadas homologías en sus secuencias, que también se observan entre los dominios de las regiones constantes (C_L, C_{H1}, C_{H2}, C_{H3} y C_{H4}).

En los estudios filogenéticos se comprueba, por otra parte, que, para un determinado dominio (p. ej., C_{H2}), las homologías pueden ser más importantes entre las Ig de distintas especies (p. ej., C_{H2} de las IgG del hombre y del conejo) que entre las diferentes clases y tipos de cadenas de las Ig de una misma especie (p. ej., C_{H2} de las IgG e IgM del hombre).

El estudio tridimensional de fragmentos Fab de IgG mediante análisis cristalográfico con rayos X muestra claramente un ordenamiento de cuatro conformaciones globulares (V_L, V_H, C_L y C_{H1}) sorprendentemente similares en su estructura tridimensional, y el estudio por microscopia electrónica de moléculas de IgG completas muestra conformaciones semejantes en Fc (2 C_{H2} y 2 C_{H3}). La similar conformación espacial de los 12 dominios de una IgG completa se explica por las homologías entre ellos.

La base estructural de las diversas propiedades biológicas de las Ig es precisamente la presencia en su molécula de los dominios. Así, dos dominios que interaccionan (V_L y V_H) son los implicados en el reconocimiento y combinación con el Ag, y los otros dominios son los responsables de las funciones efectoras (fijación del complemento, paso placentario, etc.).

La teoría de los dominios ha sido fortalecida por el conocimiento de que éstos están codificados por genes distintos, es decir, los dominios son distintas regiones de la molécula que constituyen unidades conformacionales separadas, las cuales son la base estructural de las diversas propiedades funcionales y se corresponden con distintas unidades de codificación en el ADN.

Como se deduce de los estudios filogenéticos, la teoría de los dominios aporta importantes datos para la interpretación evolutiva de las Ig.

ANTIGENICIDAD DE LAS Ig

La heterogeneidad y diversidad de las Ig tienen como consecuencia diferencias en su antigenicidad de gran interés, algunas de las cuales ya se han señalado.

Desde el punto de vista antigénico, las Ig presentan tres niveles de especificidad: *isotipia, alotipia* e *idiotipia*. La isotipia y la alotipia corresponden preferentemente a diferencias estructurales en la región C de las cadenas polipeptídicas y son la razón fundamental de la heterogeneidad de las Ig; las especificidades alotípicas, además, constituyen marcadores genéticos de las Ig. La idiotipia, por su parte, se debe a la variabilidad de la región V de las cadenas, que explica la diversidad de las Ig. Estos tres niveles de especificidad se resumen en la tabla 20-2.

Isotipos

Las especificidades que se encuentran en todos los individuos de la misma especie constituyen los isotipos. En la práctica, los isotipos importantes se deben a diferencias en la región constante.

Los principales isotipos existentes en las Ig son las cinco clases de cadenas H y los dos tipos de cadenas L. Puesto que las moléculas poseen tanto cadenas ligeras κ como cadenas ligeras λ, el isotipo de la Ig está siempre definido por su cadena pesada. Es importante señalar que está asociado a las funciones efectoras de cada Ig.

Si se inyecta IgG humana a un conejo, se obtiene un antisuero que contiene anticuerpos frente a las cadenas pesadas y a las cadenas L. Si dicho antisuero total se absorbe con cadenas L, se obtiene un antisuero que contiene sólo anticuer-

Tabla 20-2. Variantes antigénicas de las inmunoglobulinas humanas

	Regiones responsables	Cadena H	Cadena L
Isotipos	C	*Clases:* γ, α, μ, δ, ε	*Tipos:* κ, λ
		Subclases: γ_1, γ_2, γ_3, γ_4 α_1, α_2 μ_1, μ_2	*Subtipos:* λ_1, λ_2, λ_3, λ_4
	V	*Subgrupos* V_H	*Subgrupos* V_κ, V_λ
Alotipos	C	*Subclases:* $IgG_{1,2,3}$: Gm(1)-(25) IgA_2: Am(1)-(2)	*Tipo* κ: Km(1)-(3)
Idiotipos	V/V	Secuencias únicas en V_L y V_H, producidas en cada clon formador de anticuerpos Especificidad debida a la particular zona combinante con el antígeno	

pos monoespecíficos para las cadenas γ. Con esta metodología se preparan antisueros monoespecíficos para las diferentes cadenas pesadas, utilizables en la identificación de las clases de Ig.

Por un proceso de absorción inverso pueden conseguirse antisueros monoespecíficos para cadenas κ o λ, pero es posible obtener directamente sueros anti-κ o anti-λ por inoculación de proteínas de Bence-Jones, que son cadenas κ o λ homogéneas. Estos antisueros se utilizan para la identificación del tipo de cadena ligera existente en las Ig monoclonales producidas por los mielomas.

Un segundo orden de especificidades isotípicas de las Ig está representado por las subclases de cadenas H y los subtipos de cadenas λ, cuyas diferencias radican también en la región constante. Las subclases de cadenas H, que confieren diferentes funciones efectoras a las correspondientes subclases de Ig, tienen una considerable importancia práctica. Su detección inmunoquímica requiere el uso de antisueros monoespecíficos, de preparación mucho más compleja y delicada que la descrita para obtener los sueros para identificar sus clases.

El interés de los subtipos descritos en λ radica fundamentalmente en su valor indicativo sobre la organización de los genes de la cadena L.

Las regiones variables de las cadenas no determinan variantes isotípicas detectables por los métodos inmunoquímicos habituales. Sin embargo, el análisis de las homologías existentes en las secuencias V_κ, V_λ y V_H ha permitido proponer arbitrariamente la existencia de subgrupos posibles indicadores de la organización genética de dichas regiones.

Alotipos

Las especificidades antigénicas que se manifiestan en grupos de individuos de una especie, pero no en otros grupos de individuos de ésta, constituyen los alotipos. Su presencia depende de la existencia de genes alélicos que se transmiten hereditariamente en forma mendeliana. Se denominan también determinantes genéticos, marcadores genéticos o marcadores alotípicos de las Ig.

En el hombre se han descrito tres grupos de alotipos que se localizan en las regiones constantes: Gm en las cadenas γ de las IgG; Am en las cadenas α de las IgA y Km en las cadenas ligeras κ. Todos ellos representan un pequeño número de sustituciones en los aminoácidos (generalmente 1 ó 2) de la región correspondiente.

Alotipos Gm. Son los más importantes por su complejidad y por la utilidad que su estudio tiene en investigación inmunogenética y en diversas aplicaciones. El sistema Gm tiene múltiples determinantes que se designan numéricamente, Gm(1) a Gm(25). Están restringidos a una sola subclase de IgG, que puede presentar una combinación de dichos determinantes. Así, por ejemplo, Gm(1), (2), (3) y (17) se localizan sólo en las IgG_1. Otros se encuentran en IgG_2 e IgG_3, pero ninguno en IgG_4. Las diversas combinaciones de alotipos Gm se heredan en unidades (haplotipos).

Alotipos Am. Se localizan únicamente en la subclase IgA_2 y presentan dos especificidades. Se heredan asociados a los alotipos Gm.

Alotipos Km. Los alotipos Km de las cadenas κ no están asociados genéticamente a los anteriores. Presentan tres especificidades, dos de las cuales (Km[1], Km[3]) representan únicamente la sustitución de Leu por Val en la posición 191 (fig. 20-3). El determinante Km(2) lleva asociada otra sustitución en la posición 153.

Para demostrar los alotipos se utiliza la reacción de inhibición de la hemaglutinación pasiva, con hematíes que llevan adheridos a su superficie Ig con un alotipo Gm, Am o Km conocido. Un antisuero frente a dicho alotipo aglutinará los hematíes, pero puede inhibirse por el suero problema añadido antes, si éste contiene Ig con el alotipo ensayado.

Los antisueros aglutinantes se seleccionan de enfermos de artritis reumatoide, proceso en el cual con frecuencia se encuentra IgM frente a IgG humana (factor reumatoide). También se utilizan sueros en los que existen anticuerpos antialotipos por inmunización durante la vida fetal por alotipos de la madre o por haber recibido transfusiones múltiples. Por último, se pueden preparar antisueros por inmunización de animales con Ig mielomatosas.

El estudio de los alotipos es de inestimable valor en muchos campos de la inmunogenética. Por otra parte, encuentra valiosas aplicaciones en estudios antropológicos (frecuencia de alotipos en poblaciones humanas) y en medicina legal (identificación de muestras de sangre y otros líquidos orgánicos, determinación de la paternidad).

Idiotipos

Cada molécula de Ig, además de presentar unos isotipos y alotipos determinados, muestra una especificidad denomi-

nada idiotipo, relativa a las secuencias particulares de sus regiones V_L y V_H, que conforman su zona combinante con el antígeno. Esta especificidad, pues, está asociada precisamente a su condición de Ac y, como tal, sólo tendrán el mismo idiotipo las Ig procedentes de un mismo clon productor de Ac.

La detección de los idiotipos requiere la inmunización de un animal con Ac específicos fabricados por otro animal singénico con aquél y laboriosas absorciones para eliminar las especificidades que interfieren en el sistema. La utilización de Ig monoclonales ha facilitado el estudio de los idiotipos y sus correspondientes Ac antiidiotipo.

Actualmente se concede un gran interés conceptual a la existencia de los idiotipos. Se considera que cada organismo cuando produce un Ac (idiotipo 1) responde a él con un Ac antiidiotipo 1, frente a éste produce un antiidiotipo 2 y así sucesivamente. Esta red de idiotipos y anticuerpos antiidiotipos desempeñaría un papel primordial en la regulación de la presentación, intensidad y duración de la respuesta inmunitaria.

PROPIEDADES BIOLOGICAS

Propiedades generales

Función de reconocimiento y reacción con el Ag

La molécula de Ac reconoce el *epitope* o determinante antigénico que le corresponde y se une a él por una zona denominada *zona combinante* o sitio anticuerpo. También se conoce como *paratope*. Está situada en el fragmento Fab y formada por la interacción de los dominios V_L y V_H.

Algunas experiencias parecen indicar que la cadena pesada desempeña el papel más importante en la zona combinante. Las áreas hipervariables moduladas en su situación espacial por la existencia de puentes disulfuro en el seno de ambos dominios aportan la amplísima variabilidad que exige la misión de adaptarse al grupo determinante.

Por diversas técnicas y en particular por análisis cristalográfico con rayos X de Ig monoclonales con actividad Ac conocida, se ha estudiado cuáles son los residuos aminoácidos implicados en el reconocimiento. Se ha demostrado que sólo alguno de los residuos de las áreas hipervariables en V_L y V_H son determinantes de la complementariedad (residuos CD). Se definen como aquellos cuyo patrón de posibles sustituciones representa cambios en la especificidad de la combinación con el Ag, es decir, son las unidades de variación que generan la diversidad de la zona combinante. Los restantes residuos, cuyas sustituciones no afectan la especificidad de combinación, situados en las áreas hipervariables y en el resto de la región V, se denominan residuos FW (de *framework*, armazón). A pesar de no intervenir en la diversidad de la zona combinante, los residuos FW contribuyen a su tamaño y flexibilidad. En resumen, la zona combinante depende fundamentalmente de la secuencia primaria de las regiones V_L y V_H, y la especificidad de la combinación con el Ag radica en algunos aminoácidos de las áreas hipervariables.

Funciones efectoras

Otras porciones de la molécula de Ig, en particular los dominios situados en el fragmento Fc, tienen importantes funciones biológicas (tabla 20-3).

La flexibilidad propia de la bisagra permite a los dos brazos de la molécula modificar ampliamente la apertura del ángulo que forman para unirse a dos moléculas de Ag. Las Ig monoméricas tienen dos valencias.

Los dominios del fragmento Fc presentan sitios activos, que les permiten interaccionar con diversas estructuras y desarrollar de manera desigual, según las diferentes clases y subclases de Ig, las siguientes funciones:

1. Unión a receptores en el sincitio-trofoblasto y pase placentario (IgG).
2. Fijación a receptores en los macrófagos y polimorfonucleares (IgG).
3. Fijación a receptores en las células cebadas homólogas y en la piel heteróloga (IgE/IgG).
4. Polimerización que incorpora una pieza J (IgA, IgM).
5. Incorporación de la pieza secretoria (IgA).

Con ocasión de la formación de los complejos Ag/Ac y por modificaciones alostéricas se activan sitios responsables de la:

1. Fijación de C_{1q} (IgG, IgM).
2. Desgranulación de las células cebadas (IgE).

Tabla 20-3. Propiedades biológicas de las inmunoglobulinas humanas

	IgG							
	IgG_1	IgG_2	IgG_3	IgG_4	IgA	IgM	IgD	IgE
Valencia	2				2 (?)	5-10	2	2
Aparición tras la inmunización	Tardía					Precoz		Precoz
Presencia en las secreciones	+				+++	±	–	++
Transferencia placentaria	+	±	+	+	–	–	–	–
Fijación del complemento								
Vía clásica	++	+	++	–	–	+++	–	–
Vía alternativa	+	+	+	?	+	+	–	+
Receptor en los macrófagos	+	–	+	–	–	–	–	–
Fijación homóloga a células cebadas (hipersensibilidad anafiláctica)	–	–	–	–	–	–	–	+
Fijación heteróloga a la piel (anafilaxia cutánea pasiva)	+	–	+	+	–	–	–	–

Por último, otras situaciones, como la formación de agregados, pueden hacer que las Ig muestren otros efectos, como la activación del complemento por la vía alternativa.

Propiedades de las diversas clases

Las diversas clases y subclases de Ig presentan propiedades biológicas y fisiológicas distintas, algunas de las cuales se resumen en las tablas 20-3 y 20-4.

IgG

Las IgG se sintetizan tardíamente tras un primer contacto con el Ag; sin embargo, tras un segundo contacto, la mayoría de las Ig formadas pertenecen a esta clase (respuesta secundaria). Son las Ig más abundantes y representan más del 70 % de las Ig séricas totales. Las diversas subclases se presentan en proporciones muy diferentes; IgG_1 es la subclase más frecuente (más del 60 %), seguida por IgG_2 (alrededor del 18 %), mientras IgG_3 e IgG_4 se encuentran en mucho menor proporción.

Atraviesan la placenta merced a la existencia de receptores para su fragmento Fc en el sincitio-trofoblasto placentario. Por esta razón, el recién nacido posee anticuerpos IgG de origen materno que representan un importante factor defensivo en los primeros meses de la vida.

Los inmunocomplejos formados por IgG activan el complemento por la vía clásica y los agregados de IgG pueden también activarlo por la vía alternativa. Los macrófagos y polimorfonucleares presentan receptores para Fc, que facilitan la adhesión y fagocitosis de los microorganismos (anticuerpos opsonizantes), que está potenciada por los fragmentos liberados del complemento.

Las IgG humanas se fijan a las células cebadas de la piel del cobayo (anafilaxia cutánea pasiva), pero no intervienen en los cuadros de hipersensibilidad anafiláctica, porque no se fijan a las células homólogas. Difunden fácilmente al espacio extravascular (más del 50 %), y, por ello, las Ig son las principales responsables de la actividad Ac en los tejidos. Intervienen en la neutralización de toxinas bacterianas y en la defensa frente a microorganismos, sobre todo por su facilitación de la fagocitosis.

IgA

Aunque son las segundas en concentración sérica (más del 10 %), son las más frecuentes e importantes en las secreciones, donde predomina la subclase IgA_2. Se producen y son secretadas por el sistema linfoide contiguo a las vías respiratorias, tubo digestivo, tracto genitourinario y otras superficies mucosas. Por ello, son abundantes en el moco nasal, secreciones bronquiales, saliva, lágrimas, secreciones prostática y vaginal, sudor y calostro. Constituyen un sistema de defensa primaria en superficie, al que se atribuye gran importancia sobre todo en las infecciones de etiología vírica. Las IgA no atraviesan la placenta, pero su presencia en calostro puede representar una defensa local digestiva en el niño recién nacido y una defensa de tipo general en otros animales recién nacidos.

IgM

Son las Ig que se sintetizan más precozmente tanto en el curso de la evolución ontogénica, puesto que el feto las puede producir en la vida intrauterina, como tras un primer contacto con el Ag en la vida adulta (respuesta primaria). No desempeñan, en cambio, un papel importante en la respuesta secundaria. También son las Ig que aparecen más precozmente en la escala filogenética. Representan del 5 al 10 % de las Ig séricas totales.

Su valencia teórica es de 10, pero parece que tal unión sólo ocurre así con haptenos simples. Con los Ag grandes, por dificultad espacial, las IgM son con frecuencia pentavalentes. Esta multivalencia es la responsable de que las IgM sean excelentes Ac aglutinantes de bacterias y hematíes. Fijan el complemento por la vía clásica con la máxima eficacia, y basta una sola molécula para desencadenar la activación.

Más del 75 % de las IgM permanecen confinadas en el torrente circulatorio e intervienen en la defensa frente a la presencia de microorganismos en sangre, sobre todo en los casos de bacteriemia por su eficacia en la lisis bacteriana mediada por el complemento. Algunos Ac están asociados claramente a las IgM, como los Ac «naturales» ABO de los grupos sanguíneos. Por último, es necesario destacar que junto a las IgD son las Ig más frecuentemente halladas en la superficie de los linfocitos B (IgM_{mem}).

IgD

Su concentración en suero es muy escasa y sus propiedades biológicas son poco conocidas. Aunque determinadas IgD han mostrado diversas especificidades Ac (anti-ADN, antialbúmina, antimetabolitos de la penicilina, etc.), su característica más sobresaliente es su frecuente presencia en la superficie celular de los linfocitos B, que es aún más acentuada en la sangre del cordón umbilical. Por dicho motivo se cree actualmente que las IgD pueden ser receptores de superficie para la iniciación de la respuesta inmunitaria que aparecen precozmente en la evolución.

Tabla 20-4. Caracteres fisiológicos de las inmunoglobulinas humanas

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Concentración normal en suero, mg/ml	8-16	1,4-4	0,4-2	0,03	0,001
Porcentaje de las Ig séricas totales	70-80	10-15	5-10	0,2-1	0,002
Porcentaje de distribución intravascular	48	41	76	75	51
Tasa de síntesis, mg/kg/día	36	37	27	0,4	0,004
Vida media en plasma, días	21*	6	5	3	2,7

*Media de las diferentes subclases; la vida media de IgG_3 es considerablemente menor, 7 días.

IgE

A pesar de que se encuentran en concentraciones extraordinariamente pequeñas en suero (que se expresan en nanogramos), su actividad biológica es muy importante. Se fijan por su fragmento Fc a las células cebadas homólogas y, al unirse al Ag específico (alergeno), ocasionan su desgranulación con liberación de sustancias vasoactivas. Son, por ello, las responsables de la anafilaxia y alergia atópica.

Además de incrementarse en algunos procesos alérgicos, la concentración de IgE aumenta de manera considerable en determinadas parasitosis, por lo que parece desempeñar en ellas un papel decisivo. Por otra parte, la distribución corporal de las IgE guarda cierto paralelismo con la de las IgA y su producción parece tener lugar de forma importante en el tejido linfoide contiguo a las mucosas. De ahí que se les atribuya una misión defensiva en las superficies.

DINAMICA DE LA RESPUESTA HUMORAL

Iniciación de la respuesta humoral

Los linfocitos B capaces de desarrollar una respuesta humoral ante un determinado antígeno deben poseer receptores en su superficie celular capaces de reconocerlo de forma específica. Parece claro, en el momento actual, que dichos receptores son moléculas de Ig unidas a su membrana. Sin embargo, el receptor Ig no es suficiente por sí solo para que se inicie el proceso que conducirá a la formación de un clon de células plasmáticas productoras de Ac. Requiere la colaboración de otros componentes de superficie capaces de constituir con él una unidad funcional receptora.

Los linfocitos B precisan para su estimulación dos señales (o una señal compleja): por una parte, una señal no específica (mitógena) que produce una activación policlonal con diferenciación y proliferación de diversos clones B y, por otra, una señal específica, reconocida por el receptor Ig, que provocará la activación monoclonal y la producción del Ac específico.

La unidad funcional receptora en el linfocito B necesaria para que se inicie una respuesta humoral es distinta para los Ag T-independientes y los Ag T-dependientes. Los Ag T-independientes llevan en sí mismos las dos señales, porque son mitógenos para las células B, y la estimulación de la síntesis de Ac puede ocurrir por interacción del receptor Ig con un receptor distinto para mitógenos B. La activación por Ag T-dependientes, que conduce a una respuesta humoral, es un proceso mucho más complejo, que implica la cooperación de otras poblaciones y subpoblaciones celulares y la presencia por lo menos de tres tipos de receptores en la membrana del linfocito B: moléculas Ig ligadas a la membrana, receptores para factores mitógenos y moléculas Ia del complejo mayor de histocompatibilidad.

Los receptores Ig de los linfocitos B pertenecen a una sola clase, subclase y alotipo, pero, además, corresponden a un idiotipo particular que les permite reconocer su antígeno correcto (epitope). Cada linfocito B contiene un elevado número de moléculas Ig en su superficie (del orden de 10^5). En la mayoría de los linfocitos B, las Ig expresadas son IgM monoméricas y, sobre todo en el recién nacido, con frecuencia se encuentran simultáneamente IgM e IgD.

Tras la estimulación antigénica ocurre la transformación blástica, seguida de proliferación y diferenciación celular, que producirá el clon de células plasmáticas productoras de Ac.

Biosíntesis y secreción de las Ig

Hasta hace pocos años se consideraba que una célula plasmática producía una sola clase de Ig, pero las pruebas de la existencia de proteínas mielomatosas «biclonales» con producción simultánea de IgG e IgM, dotadas de regiones variables V_L y V_H idénticas y regiones C_H diferentes (γ y μ), han refutado esta teoría. Los avances de la inmunogenética permiten afirmar que una sola célula (un clon) puede producir sucesivamente Ig de diferentes clases, que, en todo caso, presentarán la misma cadena ligera y el mismo idiotipo. La diferenciación linfocitaria conduce a la aparición de IgM (y con frecuencia también IgD) en la superficie de la célula B y la maduración sucesiva, a la producción de IgM_{secr}. El cambio posterior a la producción de IgG o IgA, y probablemente IgE, es un hecho comprobado y tiene su explicación genética (v. más adelante).

La síntesis de las cadenas H y L constitutivas de la molécula de Ig tiene lugar en compartimientos diferentes de la misma célula. Las cadenas ligeras se forman en los pequeños polirribosomas 190S, mientras las cadenas pesadas son sintetizadas por los grandes polirribosomas 240S. Como consecuencia de la diferente longitud de sus secuencias, la velocidad de síntesis de las cadenas L es doble que la de las cadenas H; una cadena L se sintetiza en 30 segundos y una H, en 60. Teniendo en cuenta los múltiples polirribosomas existentes, se comprende que el número de moléculas fabricadas por la célula puede ser muy elevado (hasta 2 moléculas por segundo).

Cada cadena L libre en el citoplasma se une a una cadena H, todavía ligada al polirribosoma o en la cisterna del retículo endoplásmico, y se forma una semimolécula de Ig. En el aparato de Golgi, las cadenas H incorporan hidratos de carbono en su región constante. La Ig completa se forma por la unión de 2 semimoléculas, al establecerse entre ellas los puentes disulfuro. Existen también otras variadas formas de ensamblaje con ordenamientos intermedios.

La secreción de las Ig se realiza fundamentalmente por exocitosis (formación de vesículas que vierten su contenido a la membrana), permaneciendo unidas a la superficie o liberándose al exterior.

La pieza J, que también es sintetizada por las células plasmáticas, se une a las unidades básicas para formar los polímeros en el curso del proceso secretor. La pieza secretoria se sintetiza en las células epiteliales y se une al dímero, cuando la IgA atraviesa la mucosa hacia las secreciones.

La síntesis y el catabolismo de las Ig están teniendo lugar continuamente, de forma que los niveles que existen en el organismo son el resultado de ambos procesos. La vida media en el plasma es considerablemente más elevada para las IgG que para las demás clases (tabla 20-4).

La síntesis de Ac tiene mecanismos reguladores, que inhiben dicha síntesis cuando la respuesta ha alcanzado un nivel adecuado *(feedback)*. La inhibición de la respuesta por la existencia de Ac explica el fracaso de las inmunizaciones en lactantes con anticuerpos pasivamente recibidos de la madre.

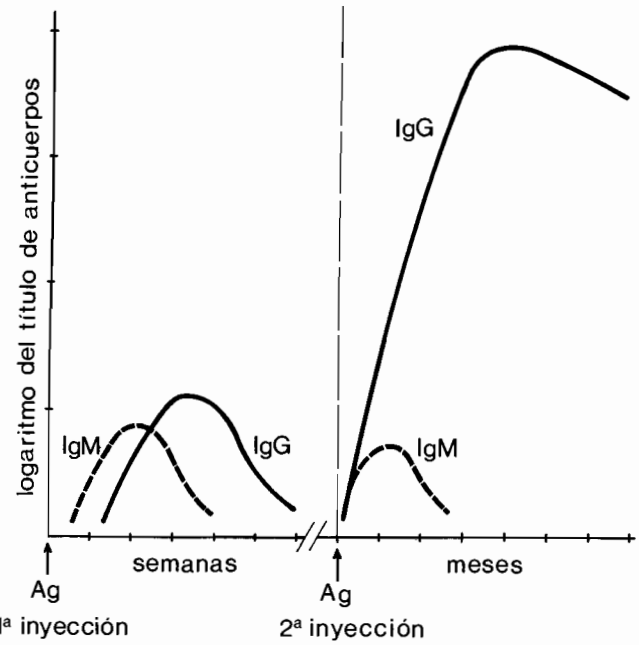


Fig. 20-5. Respuesta primaria y secundaria a una inmunización.

Respuesta primaria y secundaria

Los Ac producidos ante el primer contacto con el Ag difieren de los originados ante un posterior contacto con él, en la clase de Ig producidas, la precocidad de aparición, el título máximo alcanzado, su persistencia y la afinidad de los Ac por el Ag.

Respuesta primaria. En la respuesta primaria (fig. 20-5), los Ac comienzan a producirse a las pocas horas, pero no son detectables hasta los 6-10 días (tiempo de latencia), alcanzan su máximo a las 2-3 semanas y su título no es muy elevado. Son sobre todo IgM, que en cualquier caso aparecen antes que las IgG. Los Ac desaparecen precozmente en la respuesta primaria.

Respuesta secundaria. En la respuesta secundaria, los Ac se producen inmediatamente en gran cantidad y el título asciende rápidamente alcanzando valores 5 a 10 veces superiores a los de la respuesta primaria; son sobre todo IgG y se mantienen durante meses o años. El mismo tipo de respuesta se obtiene aunque haya transcurrido mucho tiempo desde el primer contacto (reacción anamnésica). Indica la *existencia de* «memoria» en el sistema inmunitario. Las inoculaciones sucesivas producen también un aumento de la afinidad de los Ac (*v.* cap. 22).

BASES GENETICAS DE LA VARIABILIDAD Y HETEROGENEIDAD DE LOS ANTICUERPOS

En el curso de la respuesta inmunitaria humoral se producen anticuerpos dotados de un elevadísimo número de especificidades diferentes, que los cálculos más prudentes estiman que no debe ser inferior a 10^6. Por otra parte, las Ig producidas son extremadamente heterogéneas. Resulta evidente que el sistema genético responsable de la codificación de la respuesta inmunitaria humoral debe ser extraordinariamente complejo y sofisticado para responder a esta heterogeneidad y diversidad.

Es conocida la noción, sólidamente establecida como un dogma de la biología molecular, de un gen, un polipéptido. Sin embargo, es difícil conciliar esta doctrina con las peculiaridades estructurales de las Ig.

Las células B producen tres tipos de cadenas polipeptídicas, es decir, debe haber tres familias de genes que las codifiquen (κ, λ y H). El hecho de que las cadenas presenten secuencias idénticas en una región (C) y extremadamente variables en otra (V) hace muy difícil que un solo gen pueda informar ambas regiones. La herencia mendeliana de los alotipos, situados en la región C de diversas cadenas, sugiere que cada región C está codificada por un gen único. Pero habida cuenta de las innumerables secuencias distintas en la región V, para que el mismo gen C pueda codificar a V, deberían producirse en él un elevadísimo número de mutaciones, lo cual no parece verosímil.

De ahí que se formulara ya en 1965, sobre bases meramente teóricas, la hipótesis de que las cadenas de las Ig están codificadas por dos genes, uno para la región C y otro para la región V (dos genes, un polipéptido). Esta teoría, científicamente revolucionaria, ha sido plenamente confirmada en los años posteriores. El conocimiento de que, en las células eucariotas, el ADN presenta unidades de codificación (exones) separadas por secuencias intercalares no codificadoras y no trasladadas en la expresión (intrones) ha permitido explicar muchos de los interrogantes existentes.

La comprobación experimental de la existencia de genes V y C distintos fue acompañada del hallazgo de que están separados en el ADN de la línea germinal (células embrionarias), mientras están asociados en el ADN de las células productoras de anticuerpos. Los *loci* κ, λ y H no están asociados entre sí. Se sitúan en cromosomas autosómicos (cromosoma 14 en el hombre).

Para intentar explicar la diversidad de los anticuerpos se han formulado diversas teorías, que, a la luz de los conocimientos actuales, deben ofrecer solución al problema de la forma y el momento en que se genera la diversidad de las secuencias V_L y V_H, en las que reside la especificidad de los anticuerpos. Actualmente sólo son aceptables las teorías *selectivas*.

Línea germinal. La teoría de la línea germinal postula que a lo largo de la evolución en el desarrollo filogenético se ha generado la diversidad por mutación y selección al azar. Con ello, las células embrionarias contienen ya los genes V necesarios para codificar todas las secuencias variables. Los genes son preexistentes y estarán también en todas las células linfoides.

Recombinación somática. Según la teoría de la recombinación somática en la línea germinal existen sólo un pequeño número de genes V. La diversidad se genera a lo largo del desarrollo ontogénico mediante recombinaciones intracromosómicas. Las células linfoides del adulto contienen pocos genes V, pero la amplia capacidad de respuesta está asegurada por la existencia de gran número de clones celulares con genes inmunológicos diferentes.

Mutación somática. La teoría de la mutación somática es similar a la anterior en que considera que la diversidad se genera a lo largo del desarrollo ontogénico, pero propone

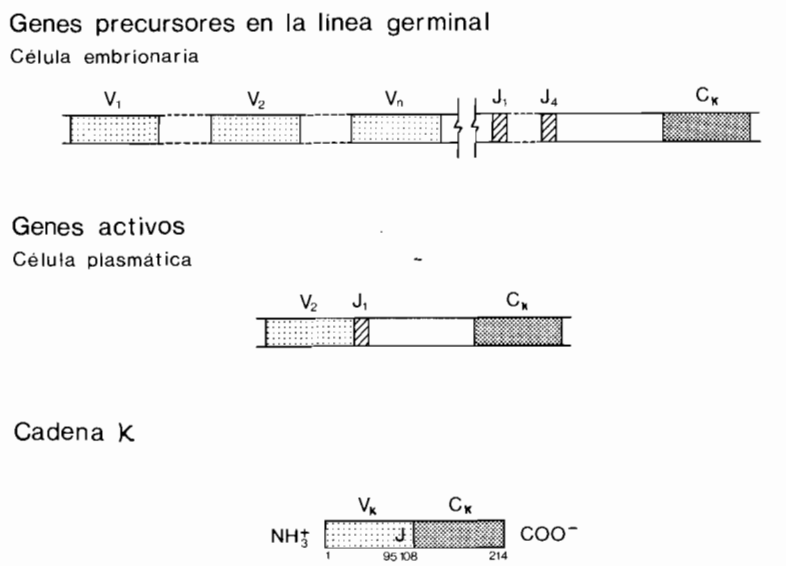


Fig. 20-6. Representación esquemática de la formación de genes activos para la producción de cadenas κ por recombinación somática durante la diferenciación linfocitaria. V, Genes V (múltiples); J, genes J (cuatro).

que el mecanismo es mutacional. A partir de pocos genes originales que codifican los diferentes tipos, clases y subclases de cadenas, por mutaciones puntuales y sucesivas se produce la diversidad.

Configuración de los genes para las cadenas ligeras (L)

Las regiones variable y constante de las cadenas ligeras están codificadas por genes distintos (genes V_L y genes C_L).

Cadenas κ. Las *cadenas* κ muestran ya en la línea germinal un elevado número de genes V_κ, que según los autores oscila entre 100 y 600. Por el contrario, sólo existe un gen C_κ (fig. 20-6).

El estudio de las secuencias de bases de los genes V_L en las células embrionarias ha demostrado el hecho sorprendente de que dichos genes V sólo codifican los aminoácidos 1 a 95. Los restantes 13 aminoácidos (96 a 108) de la región variable, que incluyen parte de la tercera área hipervariable, son codificados por un segmento de ADN localizado junto al gen C, al que se denomina *gen J* (de *joining*, unión, empalme). Hasta el momento se ha descrito la existencia de 5 genes J distintos, aunque probablemente sólo 4 son funcionales. En la diferenciación linfocitaria, uno de los genes V es separado y empalmado *(spliced)* a uno de los genes J para formar un gen completo de la región variable. No se conoce con detalle el mecanismo de la recombinación V/J, pero los genes implicados tienen cortas secuencias inversamente complementarias (palindrómicas) junto al lugar de recombinación, que deben actuar como estructuras de reconocimiento para el sistema enzimático que lleva a cabo la recombinación.

El gen completo V/J de la región variable está unido al gen C por un intrón, que se elimina en el proceso de maduración del ARN sintetizado primariamente. De esta forma, la célula produce la cadena κ.

La recombinación V/J es una importante fuente de diversidad de las Ig que puede fabricar la célula productora de Ac, por diversos mecanismos. En primer lugar, la combinación de cada uno de los centenares de genes V existentes con cada uno de los 4 genes J multiplica por cuatro las posibles cadenas κ. Por otra parte, la recombinación V/J puede tener lugar en puntos y estructuras diferentes y se genera una diversidad adicional. Por ejemplo, la posible recombinación intracodónica en la posición 96 (fig. 20-7) puede ocasionar la sustitución del aminoácido en dicha posición.

Cadenas λ. La configuración de los genes de las *cadenas* λ es similar a la descrita para las cadenas κ. Sin embargo, el número de genes V presentes en la línea germinal es mucho más reducido (2 en el ratón y probablemente menos de 10 en el hombre). Sólo se ha identificado un segmento J (precisamente este tipo de gen se descubrió en el estudio de las cadenas λ). Con ello, la cifra de posibles genes activos por recombinación V/J es muy baja y claramente insuficiente para explicar el elevado número de secuencias de aminoácidos conocido en las cadenas λ. Por ello, se ha sugerido, y algunas observaciones experimentales parecen confirmarlo, que, en las cadenas λ, la diversidad obedece principalmente a mutaciones somáticas.

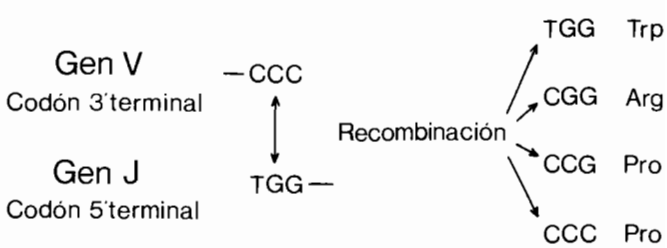


Fig. 20-7. La variación en el punto de recombinación en el codón del aminoácido 96 tiene como consecuencia la posibilidad de sustitución del Trp, cuya secuencia está en la línea germinal, por Arg o Pro.

Configuración de los genes para las cadenas pesadas (H)

Como en el caso de las cadenas L, las regiones variables (V_H) y constantes (C_H) están codificadas por genes distintos. En este caso, el gen C_H es complejo. Cada uno de los dominios de la región constante (C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}, más C_{H4} en las cadenas μ y ε) es codificado por segmentos diferentes del ADN, unidos entre sí por intrones (fig. 20-8). También está codificado por separado el segmento bisagra, lo que da idea de su importancia biológica similar a un dominio.

El número de genes V_H presentes en la línea germinal es elevado; los datos experimentales sugieren que debe haber entre 70 y 400. Dichos genes no llevan la información para toda la secuencia variable de la cadena, sino que las posiciones 96 a 108 se codifican por otros dos tipos de genes: por una parte, hasta 4 genes *J* situados próximos al gen C y cuya información dará lugar a las posiciones 101 a 108, y, por otra, un número escaso, pero no determinado, de genes denominados *D* (de diversidad), que codifican los residuos 96 a 101.

En el curso de la diferenciación linfocitaria (fig. 20-8), un gen completo se produce por una recombinación V/D/J, que reúne uno de cada uno de estos genes en forma similar a lo descrito para las cadenas L. Sin embargo, en este caso debe producirse una doble recombinación con mayores posibilidades de sustitución o pérdida de bases, que, además, afecta por completo la última área hipervariable, con lo que la amplificación de la diversidad aumenta.

La particular configuración de los genes de las cadenas H y L, y los fenómenos de recombinación genética descritos aportan una posible explicación al fenómeno de *exclusión alélica*, que se presenta en las Ig. Consiste en que los linfocitos B sólo producen cadenas H y L, que corresponden a uno de sus dos alelos cromosómicos. Así, todas las zonas combinantes producidas por una sola célula son las mismas. Esta haploidía funcional puede deberse a que un gen V incompleto sólo es recombinado correctamente para formar un gen completo en uno de los dos cromosomas homólogos. Sólo se expresará así la Ig correctamente recombinada. La reordenación es fundamental para la formación de genes activos. Las recombinaciones sin sentido o nulas parecen muy frecuentes y no sólo en V/J.

Cambios en la Ig producida

Como se ha descrito previamente, en el curso de la respuesta inmunitaria, una misma célula linfocitaria B presenta la capacidad de cambiar la clase de Ig que produce, desde una IgM inicial a una IgG o IgA que sintetiza posteriormente. Durante el cambio, la célula sustituye la región constante de la cadena μ por la región constante de otra cadena pesada dotada de otras funciones efectoras y conserva la misma especificidad por la persistencia de la misma región V_H y la misma cadena L. Esto es posible por la existencia de peculiares mecanismos de recombinación intracromosómica.

La arquitectura de los genes de la región C descrita para explicar la producción de una cadena H de cualquier clase (fig. 20-8) está deliberadamente simplificada. En realidad, el mismo ADN contiene la información necesaria para la síntesis de las diferentes clases y subclases de cadenas H, tal como se indica en las dos líneas superiores de la figura 20-9. En el ratón, el orden secuencial de los genes C_H es μ, δ, γ_3, γ_1, γ_{2b}, γ_{2a} y α; probablemente existe un orden similar en el hombre. La posición de C_ε no se conoce, aunque se le supone situado al final de la cadena.

El gen activo para la producción de cadenas μ se produce en el curso de la diferenciación linfocitaria y contiene también los genes de las restantes clases de cadenas. El cambio para la síntesis de una cadena γ o α y, en consecuencia, para la producción de IgG o IgA se produce en el ADN. El gen V/D/J de la región variable se transloca desde un lugar próximo al gen μ a otro lugar próximo a un gen γ o α, con formación de un lazo y pérdida por deleción de los genes intermedios. En el mecanismo de recombinación intervienen secuencias, próximas al lugar de recombinación en que se produce el cambio, existentes en los intrones (secuencias S, de *switch*, cambio). Algunas de estas secuencias ya estudiadas presentan entre sí importantes homologías; también se ha señalado la presencia de segmentos palindrómicos. Ambos detalles estructurales pueden determinar el lugar adecuado para la recombinación.

Finalmente, las Ig, en especial IgM, pueden ser secretadas o permanecer unidas a la membrana celular, cualidad que va acompañada de diferencias en la estructura de la porción carboxiterminal de la cadena μ. El proceso que

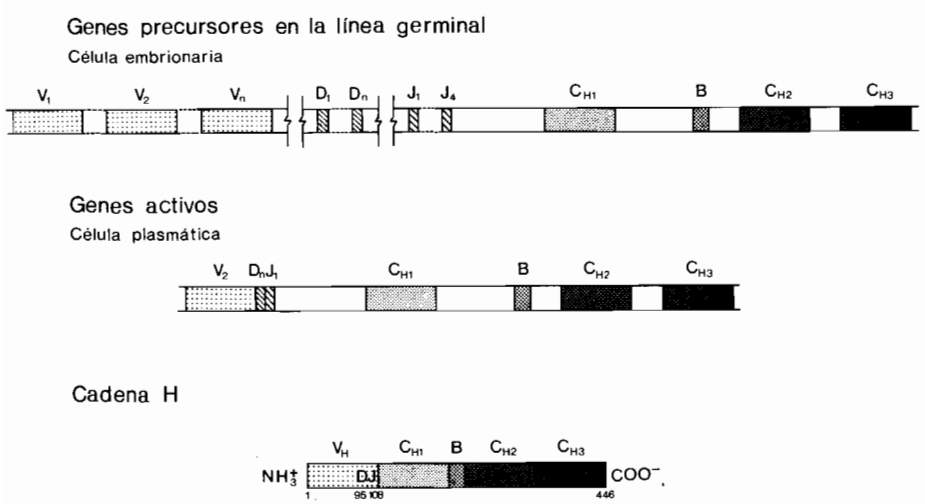


Fig. 20-8. Representación esquemática de la formación de genes activos para la producción de cadenas pesadas por recombinación somática durante la diferenciación linfocitaria. Se expresa únicamente una cadena H con sus dominios. V, Genes V_H (múltiples); D, genes D (pocos, no precisados); J, genes J (cuatro); B, gen y segmento bisagra.

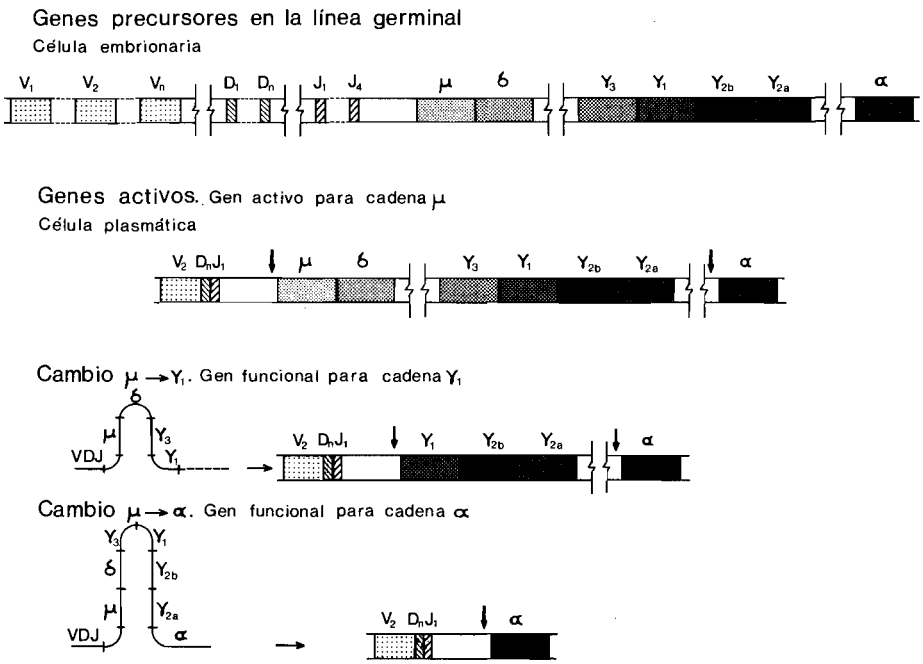


Fig. 20-9. Representación esquemática del mecanismo genético del cambio en la cadena pesada sintetizada por una célula productora de anticuerpos. No se detallan los dominios e intrones presentes en las diversas regiones constantes. V, Genes V_H (múltiples); D, genes D (pocos, no precisados); J, genes J (cuatro); ↓, lugares de cambio identificados.

hace posible que a partir de un único gen Cμ se produzca IgM_{mem} o IgM_{secr} tiene lugar en el ARN, por formación de dos ARNm distintos a partir de un ARN precursor. Se supone que un proceso similar ocurre en las otras clases de Ig, que también presentan moléculas ligadas a la membrana. El mismo mecanismo en el ARN parece el responsable de la frecuente presencia simultánea en la superficie de las células B de IgM e IgD, cuyos genes Cμ y Cδ están muy próximos entre sí.

Evolución de las Ig

Las homologías que se han señalado entre los dominios de las Ig sugieren que las moléculas actuales derivan de un proceso de duplicación de genes y subsiguiente diversificación. Un gen ancestral puede haber codificado un Ac primitivo, compuesto de una secuencia de unos 110 aminoácidos con un puente –SS–. Probablemente se duplicó y divergió para dar lugar a las regiones V y C primitivas. Por duplicaciones sucesivas se habrían formado los diferentes tipos de regiones V y de dominios C. La evolución filogenética ha sido muy activa en las regiones V y ha dado lugar a los múltiples genes V que se estima que existen en la línea germinal.

En este esquema evolutivo ocupa un lugar importante la β_2-microglobulina, péptido presente en los antígenos HLA humanos. Su secuencia de unos 110 aminoácidos con un puente disulfuro presenta claras homologías con el dominio C_{H3} de las IgG_1. Dadas las evidentes similitudes existentes en el comportamiento, como elementos de reconocimiento, de las Ig y los Ag del complejo mayor de histocompatibilidad en diversas situaciones, se ha sugerido que la β_2-microglobulina ha evolucionado de los mismos precursores que los dominios de las Ig.

En resumen, de acuerdo con los conocimientos actuales, la heterogeneidad y diversidad de los Ac son el resultado tanto de la evolución filogenética como de la evolución ontogénica. La línea germinal contiene ya una variada serie de genes V, pero no lo suficientemente amplia para responder de la diversidad conocida en los Ac. Los genes C codifican en las células embrionarias las subclases H y los subtipos L. La codificación por separado C y V explica la heterogeneidad de los Ac. En el curso de la diferenciación linfocitaria en el individuo se genera una diversidad adicional por mecanismos de recombinación somática (V/J y V/D/J), y es muy probable también la existencia de procesos de hipermutación somática, sobre todo en V.

ANTICUERPOS MONOCLONALES

Como se ha señalado, la respuesta en Ac a un Ag complejo es muy heterogénea. En un organismo maduro existen millones de estirpes de linfocitos B diferentes, precursores de las células plasmáticas. Aunque todas ellas derivan de un tronco celular común, cada estirpe adquiere la capacidad de fabricar un Ac que reconoce un epitope concreto y distinto.

Cuando se inyecta un inmunógeno a un animal, éste responde elaborando Ac contra las diferentes moléculas antigénicas, contra los diferentes epitopes y con diferente afinidad frente al mismo epitope. Además, los Ac formados pertenecen a diferentes clases y subclases de Ig, y en el suero están presentes otros Ac y otras proteínas plasmáticas. Un *antisuero* convencional es, pues, una mezcla heterogénea de Ac.

Las células secretoras de Ac normales no pueden multiplicarse en cultivo, pero sí las células plasmáticas del mieloma, tumor maligno del sistema inmune. Las células linfoides pueden ser, pues, inmortalizadas por la transformación celular que tiene lugar en el mieloma.

La inmortalización de células linfoides puede conseguirse también por infección con virus de Epstein-Barr y por transfección.

La posibilidad de formación de células híbridas por fusión de dos células diferentes cultivadas *in vitro* se conoce desde 1960. En los años siguientes se estudió extensamente el fenómeno de la fusión entre células de la misma y diferente especie, sobre todo para precisar la localización y expresión de los genes de las células parentales. En 1975 se describió por primera vez la producción de híbridos capaces de producir *anticuerpos monoclonales (Ac Mc)* específicos, por fusión entre células de un plasmocitoma del ratón y células productoras de anticuerpos de la misma especie. Con ello se consiguió la *inmortalización* de una función específica diferenciada, en este caso la producción de Ac Mc, y se introdujo en biología y medicina la tecnología de los mielomas híbridos de linfocitos, hibridomas linfocitarios o, simplemente, *hibridomas*.

El proceso de fusión entre dos células en cultivo con aparición de un híbrido puede ocurrir de forma espontánea, aunque es un acontecimiento extraordinariamente raro. El virus Sendai inactivado facilita la formación de híbridos y fue utilizado inicialmente con este fin; sin embargo, en la actualidad se usa como agente fusionante el polietilenglicol.

En la formación de un hibridoma, algunas de las células presentes, en contacto con polietilenglicol, fusionan sus núcleos y dan origen a células híbridas tetraploides con variadas composiciones del ADN. Un pequeño número de estos híbridos son estables y viables, pueden multiplicarse indefinidamente y cada uno de ellos da lugar en su descendencia a un clon; otras células fusionadas son, en cambio, inviables y mueren con rapidez. Por su parte, las células no fusionadas se eliminan en los subcultivos por dos mecanismos distintos: las células linfoides del animal inmunizado, porque son incapaces de multiplicarse, y las células mielomatosas, porque, si se seleccionó una mutante enzimo-dependiente, no se multiplicarán en un medio carente de dicha enzima.

Las células fusionadas obtenidas constituyen una población heterogénea. En algunas de ellas (los hibridomas productores de Ac Mc), la célula mielomatosa parental proporciona al híbrido su capacidad de multiplicarse de forma indefinida en cultivo y la capacidad de secreción de inmunoglobulinas; la célula linfocitaria parenteral, por su parte, proporciona al híbrido la información genética para la producción del anticuerpo específico (tabla 20-5) y de la enzima en que era deficiente la célula del mieloma.

Aunque existen numerosas variantes para la obtención de hibridomas y Ac Mc específicos, el protocolo general, que se esquematiza en la figura 20-10, tiene las siguientes etapas:

Tabla 20-5. Funciones inmortalizadas en los hibridomas

	Células fusionadas	Funciones específicas inmortalizadas
Hibridoma de células B (mieloma híbrido)	1. Plasmocitoma + 2. Células linfoides esplénicas	Producción y secreción de Ac según el fenotipo proporcionado por 2
Hibridoma de células T (linfoma híbrido)	1. Linfoma de células T + 2. Células linfoides esplénicas	Características de las células T según el fenotipo proporcionado por 2

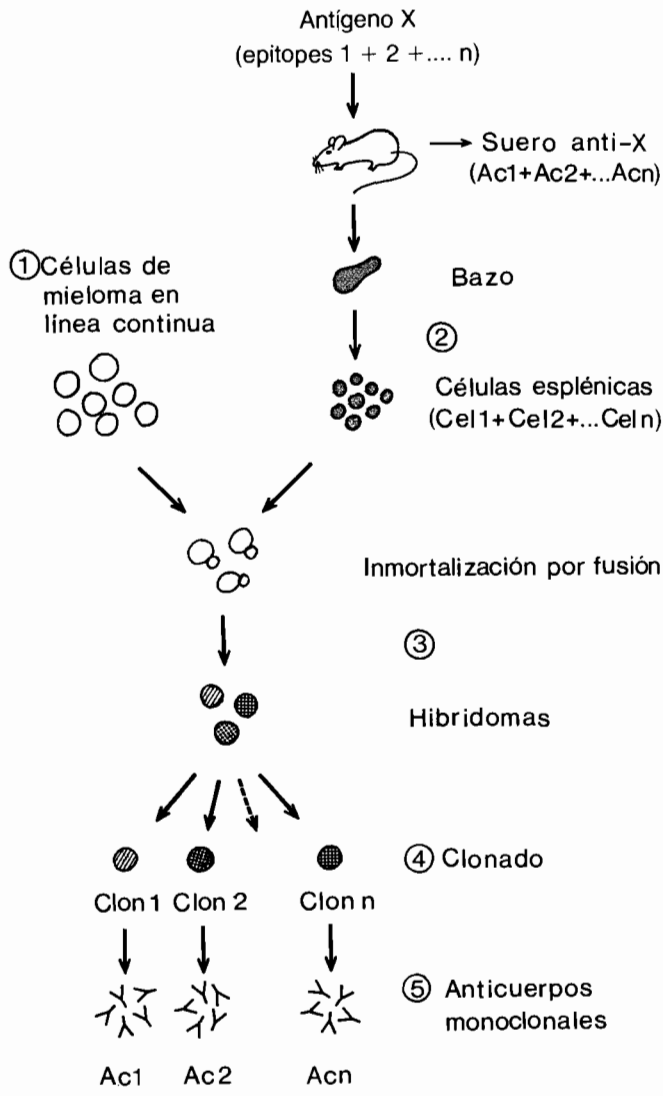


Fig. 20-10. Protocolo general para la producción de hibridomas y obtención de anticuerpos monoclonales específicos para cada epitope de un antígeno.

1. Como célula de mieloma parental se selecciona una mutante enzimo-dependiente de una línea celular de plasmocitoma. Habitualmente se usan células deficientes en hipoxantín-guanín-fosforribosil-transferasa (HGFRT⁻). Se cultivan en un medio que contiene dicha enzima.

2. Las células parentales productoras de anticuerpos se obtienen del bazo (o de la población linfocitaria de sangre periférica) de un animal inmunizado con el antígeno frente a cuyos epitopes se desea obtener anticuerpos monoclonales.

3. Ambos tipos de células parentales se mezclan en polietilenglicol durante 1 minuto. Se produce la fusión celular y se originan los hibridomas.

4. Tras un lavado y unas horas de incubación, se procede a la dilución y clonado de la suspensión celular, subcultivando durante varias semanas en un medio desprovisto de HGFRT. Las células no fusionadas mueren en este medio y cada uno de los hibridomas da lugar a un clon.

5. Los sobrenadantes de cada clon celular son examinados periódicamente para determinar la presencia de anti-

cuerpos frente al antígeno utilizado. Los clones identificados como productores de anticuerpos son clonados de nuevo, se comprueba su capacidad de producción, se establece la línea celular correspondiente y se determinan las características del Ac Mc obtenido.

La producción del Ac Mc se realiza por cultivo en masa de la línea celular o por inducción de un mieloma en un animal singénico, en cuyo líquido ascítico la concentración del Ac Mc puede ser muy elevada.

Cuando se ha establecido un clon de células fusionadas, todo el Ac que secretan deriva por definición de una célula, pero no se trata necesariamente de un Ac Mc en el sentido inmunológico, porque cada célula del clon tiene cromosomas de la célula mielomatosa y de la del bazo, y expresa ambas dotaciones cromosómicas. Dado que los híbridos tienden a perder cromosomas, pueden seleccionarse las variantes que sólo secretan el Ac específico. Cuando la línea mielomatosa parental, además de ser HGFRT$^-$, es una mutante que sólo secreta cadenas ligeras o que no secreta Ac en absoluto, se facilita la obtención del clon que sólo secreta Ac Mc según la información proporcionada por la célula de bazo parental. En la actualidad se dispone de una amplia gama de líneas mielomatosas murinas para fusión de estas características (líneas NS1, SP2, 653, etc.).

Se ha consagrado un gran esfuerzo a la consecución de adecuadas líneas de mieloma humano y, en general, a la producción de hibridomas con células humanas que sinteticen anticuerpos que puedan ser utilizados experimentalmente en el hombre. Aunque se consigue la fusión entre células mielomatosas de ratón y células humanas que expresen los caracteres de estas últimas, en general son poco estables. En 1980 se obtuvieron los primeros hibridomas con ambas células de origen humano.

Bajo los mismos principios se han desarrollado *hibridomas de células T* mediante la fusión de células de un linfoma de células T con células linfoides de un animal inmunizado. En este caso (tabla 20-5) se consigue la inmortalización de los caracteres de la célula T parental. Estos hibridomas encuentran, entre otras, importantes aplicaciones en la investigación de las funciones, marcadores de superficie y productos de las subpoblaciones linfocitarias T. También resultan inestimables en la producción de mediadores de las células linfoides.

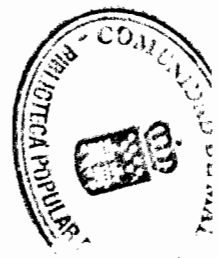
Los Ac Mc producidos por hibridomas presentan considerables ventajas frente a los antisueros convencionales preparados en animales inmunizados. Son inmunoglobulinas de una sola especie molecular con una afinidad medible por el Ag, lo que los convierte en productos de grado analítico, utilizables para una cuantificación precisa de las reacciones serológicas, y en reactivos estándar de calidad constante. Por otra parte, pueden seleccionarse los anticuerpos específicos frente a los diferentes determinantes de un antígeno complejo, sin la difícil y a veces imposible purificación del inmunógeno (antígenos de las membranas celulares, tumorales, microbianos, etc.): de hecho, la tecnología de los hibridomas permite una completa disección de la respuesta inmunitaria.

Por último, la inmortalidad de las líneas celulares productoras garantiza el suministro continuo de anticuerpos de calidad constante con costos reducidos.

Por todo ello, no es exagerado afirmar que los hibridomas y sus productos han introducido una verdadera revolución tecnológica con enorme impacto en la inmunología, microbiología, hematología, genética y muchas otras áreas, y múltiples aplicaciones en investigación, diagnóstico y terapéutica (algunas ya consolidadas y otras aún en el terreno experimental).

Tabla 20-6. Aplicaciones en biología y medicina de los anticuerpos monoclonales

1. Estudio de la constitución de antígenos complejos
   - Células y tejidos
   - Diferenciación celular
   - Tumores
   - Receptores
2. Purificación de antígenos por inmunoadsorción
3. Diagnóstico
   - Inmunología
   - Enfermedades infecciosas
   - Tumores
4. Terapéutica
   - Seroterapia
   - Quimioterapia, inmunotoxinas



En la tabla 20-6 se resumen las principales aplicaciones de los Ac Mc, cuyo detalle se incrementa día a día. Se utilizan para identificación de antígenos celulares y, en consecuencia, individualización de subpoblaciones celulares normales (células linfoides, células del sistema nervioso) o patológicas (leucemias, células tumorales); como reactivos de laboratorio para su uso en inmunoquímica, microbiología, hematología, endocrinología, etc., por técnicas como radioinmunoensayo, inmunofluorescencia o ELISA, y para caracterización de enzimas, neurotransmisores, receptores celulares, etc. En otro orden, puesto que los Ac Mc son capaces de reconocer un componente determinado de una mezcla de antígenos, constituyen inmunoabsorbentes excelentes que encuentran gran aplicación en la purificación de antígenos.

Los Ac Mc han abierto perspectivas extraordinarias en la terapéutica. Por una parte, los hibridomas podrán ser, muy probablemente, la fuente de anticuerpos utilizables en inmunidad pasiva con grandes ventajas sobre los actuales sueros preventivos y terapéuticos. Por otra parte, los Ac Mc dirigidos contra epitopes de células tumorales, de subpoblaciones linfoides, etc. se están ensayando en el tratamiento antitumoral, en la prevención del rechazo de trasplantes alogénicos, etc. en experiencias altamente prometedoras. Finalmente, la posibilidad de copular Ac Mc con toxinas de acción muy específica (de origen bacteriano o vegetal), con antimitóticos o incluso con isótopos radiactivos ha introducido el concepto de anticuerpos armados o *inmunotoxinas*, que podrían actuar con refinada selectividad destruyendo determinadas células nocivas.

BIBLIOGRAFIA

Adams, J. M.: The organization and expression of immunoglobulin genes. Immunology today, 1, 10-17, 1980.

Amzel, L. M., y Poljak, R. J.: Three-dimensional structure of immunoglobulins. Ann. Rev. Biochem., 48, 961-967, 1979.

Bach, J. F.: Immunologie, 2.ª ed. Flammarion, Paris, 1979.

Eisen, A. M.: Inmunología. Salvat Editores, Barcelona, 1979.

Fougereau, M.: Elements d'immunologie fondamentale, 2.ª ed. Masson, Paris, 1977.

Fudemberg, H. H.; Stites, D. D.; Caldwell, J. L., y Wells, J. V.: Basic and clinical immunology, 3.ª ed. Lange, Los Altos, California, 1980.

Leder, R.; Max, E. E., y Seidman, J. G.: The organization of immunoglobulin genes and the origin of their diversity. En M. Fougereau y J. Dausset (dirs.): Progress in Immunology, IV, 34-50. Academic Press, London, 1980.

Milstein, C.; Clark, M. R.; Galfre, G., y Cuello, A. C.: Monoclonal antibodies for hibrid myelomas. En M. Fougereau y J. Dausset (dirs.): Progress in Immunology, IV, 17-33. Academic Press, London, 1980.

Natvig, J. B., y Kunkel, H. G.: Human immunoglobulin classes, subclasses, genetic variants and idiotipes. Adv. Immunol., 16, 1-60, 1973.

Capítulo 21

Sistema complemento

Antonio Rodríguez-Torres

Concepto e importancia. El *sistema complemento*, o simplemente *complemento*, es un complejo sistema multimolecular que cumple funciones biológicas importantes y constituye una pieza esencial en la respuesta inmune. Interviene tanto en los más simples mecanismos de la resistencia no específica humoral y celular, como en los más complejos procesos de la inmunidad específica. Está formado por 20 proteínas plasmáticas que se encuentran en la circulación en forma de precursores inactivos, capaces de activarse por la intervención del componente que les precede en la secuencia. Las proteínas del complemento representan alrededor del 15 % de la fracción globulínica del plasma, lo que da idea de la trascendencia de las misiones que el complemento tiene encomendadas. El conjunto del sistema es termolábil y carece de especificidad inmunológica, es decir, actúa de forma no específica y no aumenta en el suero tras la inmunización.

Modo de acción. El complemento cumple sus funciones de tres maneras:

1. Produciendo, tras su completa activación, lesiones de la membrana celular, que provocan la lisis o la muerte celular.
2. Facilitando la fagocitosis de las partículas biológicas, por la facultad que presentan algunos de los fragmentos que se liberan en la activación de fijarse a receptores específicos en los fagocitos.
3. Facilitando el proceso inflamatorio, a través de la liberación de péptidos con función especializada en el reclutamiento de células fagocitarias y en la liberación de factores humorales mediadores de la inflamación.

Vías de activación. El complemento se activa por dos vías principales en función de la presencia de distintos activadores: la *vía clásica* y la *vía alternativa*. Ambas convergen en un mismo componente (C3) que constituye el elemento central y más importante. La continuación de la secuencia es común para ambas vías en un *mecanismo de ataque a la membrana*. En la vía clásica de activación intervienen 6 componentes (tabla 21-1); en la vía alternativa, 6, y en el mecanismo de ataque a la membrana, 5. Forman parte del sistema, además, 4 proteínas reguladoras, que intervienen en uno o varios de los compartimentos citados.

La vía clásica de activación es la de conocimiento más antiguo y también la mejor comprendida en su mecanismo. Se denomina también Ac-dependiente, porque, en general, se inicia por la presencia de inmunocomplejos. La hemólisis inmune, que ocurre cuando en presencia de C se ponen en contacto hematíes y Ac frente a dichos hematíes, es el proceso más característico que responde a este mecanismo. También en otras citólisis o efectos citotóxicos, en la bacteriólisis y en otras diversas circunstancias interviene la vía clásica de activación. Hoy sabemos que la presencia de sustancias, distintas de los Ac implicados en una reacción Ag/Ac, puede desencadenar la vía clásica, por lo que ésta no siempre es Ac-dependiente.

La vía alternativa de activación, denominada también vía de la properdina, es de conocimiento reciente. Su existencia, entrevista en 1954 y confirmada a comienzos de la década de los años 70, ha despertado un extraordinario interés al estar condicionada por la presencia de sustancias biológicas en ausencia de Ac. En particular, su activación por endotoxinas bacterianas sugirió desde el primer momento su importancia en la respuesta no específica del huésped. Pero, por otra parte, su activación puede también tener lugar por sustancias de origen inmunológico, como agregados de Ig. El interés del estudio de la vía alternativa ha estimulado todas las investigaciones sobre el sistema C, y se han aclarado en los últimos años sus factores y buena parte de sus mecanismos. Se ha obtenido así una visión global del sistema mucho más acorde con su trascendencia y complejidad. El mejor conocimiento del complemento, y concretamente de la vía alternativa, ha demostrado que la distinción entre resistencia inespecífica e inmunidad específica es en cierta manera artificiosa y que ambos procesos están íntimamente relacionados entre sí. Los estudios filogenéticos avalan esta interpretación.

Nomenclatura. El sistema complemento en su conjunto se expresa C. Los componentes implicados en la vía clásica de activación y en el mecanismo de ataque a la membrana se designan con un número tras la C, que indica el orden en la secuencia de activación (C1, C4, C2, C3, C5 a C9). Desafortunadamente, esta nomenclatura se estableció en el orden cronológico de su descubrimiento, que en el caso de C4 no coincide con la secuencia. Por razones históricas, las tres subunidades que forman C1 se denominan q, r y s. Los componentes que intervienen en la vía alternativa se indican por una letra mayúscula (B, D, P, H, I), a excepción de C3. Los fragmentos de las moléculas nativas, liberados en la ac-

Tabla 21-1. Propiedades de los componentes del sistema complemento

Proteína	Actividad biológica principal	Peso molecular	N.º de cadenas polipeptídicas	Movilidad electroforética	Concentración sérica (μg/ml)
Vía clásica					
C1q	Reconocimiento	400.000	18	γ_2	200
C1r	Activación	168.000	2	β	34
C1s	Activación	79.000	1	α_2	120
C4	Activación	230.000	3	β_1	430
C2	Activación	115.000	1	β_2	30
C3	Activación Amplificación	180.000	2	β_1	1.200
Vía alternativa					
C3	Reconocimiento (C3b) Activación. Amplificación	180.000	2	β_1	1.200
B	Activación	93.000	1	β_2	200
D	Activación	24.000	1	β-γ	1
P	Regulación	224.000	4	γ_2	20
H	Regulación	150.000	1	β_1	500
I	Regulación	88.000	2	β	34
Mecanismo de ataque a la membrana					
C5	Precursor CAM	180.000	2	β_1	70
C6	Precursor CAM	128.000	1	β_2	60
C7	Precursor CAM	121.000	1	β_2	55
C8	Precursor CAM	154.000	3	γ_1	55
C9	Precursor CAM	72.000	1	α	60
*Reguladores**					
$C\bar{1}$ inactivador		105.000		α_2	180
Proteína ligadora de C4		> 500.000		β	
Proteína S		80.000		α	> 300
Inactivador de anafilotoxina		300.000		α	

*Además de P, H e I.

tivación, se designan con una letra minúscula tras el símbolo del componente original; se utiliza «a» para el fragmento menor y «b» para el mayor (p. ej., C4a, C4b; Ba, Bb). La pérdida de una actividad biológica definida se indica con una «i» colocada detrás (si no existe alteración de la estructura polipeptídica primaria, p. ej., Bbi) o delante (cuando es consecuencia de una hidrólisis peptídica, p. ej., iC3b). Los complejos moleculares formados se representan indicando en orden sus componentes separados por una coma (p. ej., C3b, B). Las enzimas formadas durante el proceso de activación se pueden expresar con una barra sobre el símbolo del componente (p. ej., $C\bar{1}s$) o componentes (p. ej., $C\overline{4,2}$); en este último caso, la composición de las subunidades se detalla en la misma forma (p. ej., $C\overline{4b,2b}$).

Componentes. Cada uno de los 20 *componentes* o *factores* del complemento se define por:

1. Sus características físico-químicas (PM, movilidad electroforética, clase y número de sus cadenas polipeptídicas, contenido en carbohidratos, concentración sérica, termolabilidad, etc.). Algunas de estas características se resumen en la tabla 21-1.
2. Su actividad biológica (p. ej., reconocimiento, regulación) y la de sus productos de activación o degradación (p. ej., $C\bar{1}r$ esterasa; C3a anafilotoxina).
3. Su especificidad antigénica. En la actualidad se ha podido preparar antisueros específicos para muchos de los componentes, y la cuantificación en suero de C4 y C3 por reacciones de inmunodifusión es práctica corriente en los laboratorios de inmunología.

Los componentes del C son sintetizados fundamentalmente por células del sistema fagocitario mononuclear, sobre todo por los macrófagos. Es probable que su origen en diversos órganos sea debido a la riqueza en células macrofágicas de ellos. C1 se sintetiza en la mucosa intestinal y arteria renal, y C3, C6 y C9, en el hígado.

En general, los componentes nativos del complemento presentan un elevado peso molecular que oscila entre 70.000 y más de 500.000, lo cual explica que en su mayoría sean buenos antígenos. Su movilidad electroforética se extiende desde la movilidad α a la γ, y la mayoría pertenecen a las β-globulinas. Algunos componentes están constituidos por una sola cadena polipeptídica, pero otros están formados por dos o tres cadenas unidas entre sí por puentes disulfuro. Un caso particular que merece comentario es la estructura de C1. Es una macromolécula compuesta por tres subunidades, C1q, C1r y C1s, que se presentan unidas por enlaces no covalentes en presencia de iones Ca^{++}. Las subunidades aisladas sólo se encuentran en la circulación en circunstancias patológicas. La estabilidad del complejo depende de la presencia del Ca^{++} y se estima que el complejo es heptamolecular (C1q/2C1r/4C1s). C1q tiene una estructura muy peculiar. De peso molecular muy elevado, una parte de su estructura es muy semejante a la de la proteína del colágeno. Está formado por 18 cadenas polipeptídicas, de tres tipos distintos, que se agrupan en seis porciones globulares periféricas unidas a una porción central. En cada uno de los 6 extremos globulares se encuentra un sitio de unión para el fragmento Fc de algunas Ig.

Cada uno de los componentes está presente en el suero en cantidades distintas, y destaca la gran concentración

sérica de C3 y la presencia indiciaria del factor D. La termolabilidad del sistema se debe a que algunos factores, fundamentalmente C1, C2, C5, C8 y C9, se destruyen en unos minutos a 56 °C.

Mecanismos de activación. Con excepción de los factores D e I, que en su forma nativa tienen capacidad enzimática, los componentes del complemento se encuentran en el plasma en forma de *precursores*, cuyo paso a moléculas activas se produce fundamentalmente por dos mecanismos, *modificaciones conformacionales* o *proteólisis controlada*, provocados por los componentes activados previamente.

La modificación de la conformación molecular puede representar la manifestación de una actividad enzimática. Por este mecanismo, por ejemplo, C1r adquiere actividad proteolítica sobre C1s. La proteólisis que ejercen algunos componentes activados sobre los siguientes elementos de la secuencia implica la liberación de fragmentos biológicamente activos. En general se produce la hidrólisis de una unión peptídica con liberación de dos fragmentos activos:

1. Un fragmento, normalmente el mayor, denominado *producto de conversión*, que presenta un sitio activo de unión que le permite fijarse covalentemente a la superficie de partículas biológicas y a otras moléculas activadas del sistema complemento. Por la capacidad de unión a partículas biológicas, el fragmento actúa como un «ligando» entre la partícula y las células con receptores específicos para dicho fragmento. Por la unión a otros componentes, el fragmento puede comportarse como una subunidad de un nuevo complejo dotado de actividad enzimática y sigue implicado en la continuidad de la secuencia de activación. C4b, C3b y C5b son los fragmentos mejor estudiados dotados de estas propiedades.

La naturaleza del sitio activo de unión que manifiestan estos fragmentos ha suscitado notable interés y ha sido sobre todo estudiada en C3. El componente nativo parece contener un grupo reactivo carbonilo preservado en forma tioéster. En el fragmento C3b, dicho grupo se presenta en forma altamente reactiva capaz de transesterificación con grupos –OH, puede establecer un puente éster con grupos existentes en la superficie de las partículas biológicas y queda firmemente unido a ellas (sitio de unión metastable).

Los fragmentos que no alcanzan a fijarse, o que se disocian del complejo formado, pasan a la circulación en forma inactiva y sufren nuevos procesos de degradación, que en el caso de C3b conducen a la liberación de péptidos más pequeños, los cuales aún pueden tener algunas actividades biológicas.

2. El otro fragmento liberado del componente nativo, generalmente un péptido de pequeño peso molecular, se denomina *péptido de activación*. Queda en la fase líquida y puede tener una actividad biológica importante, de tipo hormonal, por la existencia de receptores específicos para él en la superficie de diversas células, en particular células cebadas y leucocitos polimorfonucleares. Por este motivo, C4a, C3a y C5a son anafilotoxinas. C5a, además, manifiesta una actividad quimiotáctica.

Estos fragmentos son los responsables de una importante consecuencia de la activación del complemento, cual es el reclutamiento de células fagocíticas y el desarrollo de la inflamación.

Unidades funcionales. El análisis de las secuencias de activación del complemento permite reconocer tres unidades o sistemas funcionales, sea cual fuere la vía de activación, que se denominan unidad de reconocimiento, unidad de activación y unidad de ataque a la membrana.

Es preciso, en primer lugar, que sea reconocida la partícula biológica activadora. En la vía clásica, la *unidad de reconocimiento* es el componente C1 (más exactamente su subunidad C1q, aunque todo el complejo trimolecular puede considerarse tal). C1 reconoce sus activadores específicos, que son normalmente inmunocomplejos (IC), por la existencia de receptores para lugares de unión que aparecen en las Ig al formarse el IC. En la vía alternativa, la unidad de reconocimiento es un producto de C3 (C3b), que reconoce activadores tales como las endotoxinas bacterianas.

Los siguientes componentes en cada vía constituyen la *unidad de activación*, cuya misión consiste en el reclutamiento y activación de nuevas moléculas y amplificación de los efectos.

Los 5 últimos componentes del sistema forman la *unidad de ataque a la membrana*. Estas proteínas actúan como precursoras del denominado complejo de ataque a la membrana o CAM, cuya misión es la desorganización de la doble capa lipídica de las membranas celulares y la creación de canales hidrofílicos, lipídicos o proteicos, cuya consecuencia es la lisis o muerte celular.

Amplificación. Una de las características más sobresalientes del sistema es el efecto de *amplificación* que tiene la activación. Con algunas excepciones (C1q), cuando uno de los componentes resulta activado, adquiere la capacidad de activar varias moléculas del componente siguiente. El resultado es una ampliación en cascada a lo largo de la secuencia (efecto *trigger*); un complejo molecular C1 puede conseguir la activación de miles de moléculas que intervendrán posteriormente.

La amplificación es más importante en la actuación de algunos componentes y resulta máxima en la intervención de C3, el componente común a la vía clásica y la alternativa. En este estadio existe, además, un *mecanismo de retroalimentación* positiva, que permite la incorporación de nuevas moléculas para su activación, con el resultado de una extraordinaria amplificación.

Regulación. El sistema complemento, por otra parte, tiene eficaces mecanismos de *regulación*. Diversos factores (tabla 21-1) intervienen modulando la reacción y previniendo la activación incontrolada, mediante la inhibición de la activación de ciertos componentes, la inactivación de moléculas previamente activadas o de las moléculas sustrato, o la estabilización de los complejos enzimáticos formados.

ACTIVACION

Vía clásica

Activadores

Los complejos Ag/Ac formados por IgG o IgM son los activadores específicos de la vía clásica y los de mayor impor-

Tabla 21-2. Activadores del sistema complemento

Vía clásica	Vía alternativa
Inmunocomplejos	Endotoxinas bacterianas
Dominio CH_4 alterado en Fc de IgM	(lipopolisacáridos)
Dominio CH_2 alterado en Fc de IgG (IgG3 > IgG1 > IgG2)	
Agregados de IgG	Agregados de Ig de todas clases
ADN	Extractos de pared de levaduras (zimosán)
Proteína C reactiva	Polisacáridos bacterianos y vegetales
Proteína A del estafilococo	Ciertas células infectadas por virus
Enzimas proteolíticas de tejidos y bacterias	Toxinas (factor del veneno de cobra)
Ciertos virus ARN	Enzimas proteolíticas
Polianiones y policationes	
Conglutinina	

tancia biológica (tabla 21-2). La unión entre el Ag y el Ac provoca cambios conformacionales en el fragmento Fc de la Ig implicada, concretamente en el dominio CH_4 de las cadenas μ y en el dominio CH_2 de las cadenas γ, con manifestación de receptores específicos para C1. Esto no ocurre en los complejos formados con otras clases de Ig, por lo cual IgA, IgD e IgE no activan la vía clásica.

Para que la primera subunidad de C1 (C1q) resulte activada, es necesario que por lo menos 2 de los 6 receptores que posee se unan a otros tantos fragmentos Fc. Las IgM, portadoras de 5 fragmentos Fc, son los activadores más eficaces, puesto que basta una sola molécula para la activación. En el caso de las IgG se requieren varios centenares de moléculas para que dos de ellas se sitúen lo suficientemente próximas sobre el Ag y permitan la unión de C1. Las diferentes subclases de IgG presentan una diferente afinidad para unirse a C1, y las más eficaces son las IgG_3, seguidas de las IgG_1 e IgG_2. La subclase IgG_4 no activa el sistema complemento, aunque parece que puede también unirse a su primer componente.

De manera no específica, otras muchas sustancias se han mostrado activadoras del C por la vía clásica, en diversas circunstancias experimentales y patológicas. En particular, la agregación o desnaturalización de las IgG y la actuación de proteasas (plasmina, tripsina, calicreína) pueden conducir a la activación del sistema. Otras sustancias e incluso ciertos virus pueden también actuar como activadores.

Reconocimiento y activación

La secuencia de activación de la vía clásica se representa esquemáticamente y de forma simplificada en la figura 21-1.

C1 es el primer componente que interviene en la secuencia y constituye la unidad de reconocimiento. Cuando C1q une al menos dos de sus receptores a fragmentos Fc de IgG o IgM, se produce en C1q una modificación conformacional, que induce una modificación similar en C1r, tras la cual esta subunidad adquiere actividad enzimática. $C\overline{1r}$ actúa proteolíticamente sobre C1s, y se liberan dos fragmentos peptídicos, el menor de los cuales, dotado de actividad esterasa, $C\overline{1s}$ o C1 esterasa, continuará la secuencia. Una vez activados, $C\overline{1r}$ y $C\overline{1s}$ pueden mantener la activación independientemente del complejo $C\overline{1qrs}$ (o $C\overline{1}$). C1s puede actuar enzimáticamente sobre múltiples moléculas de C4 y C2, mientras $C\overline{1r}$ sólo puede hacerlo con escasas moléculas de C1s.

La unidad de activación en la vía clásica está formada por los tres siguientes componentes del sistema, que en orden cronológico de intervención son C4, C2 y C3.

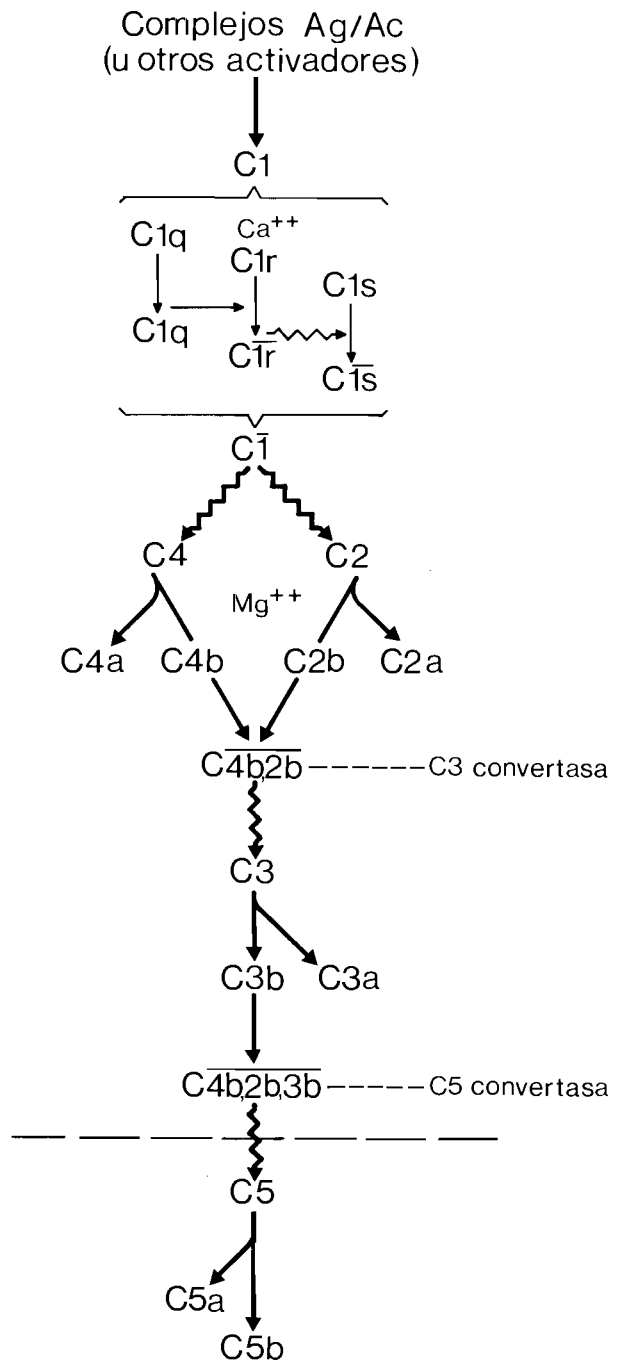


Fig. 21-1. Esquema simplificado de la activación por la vía clásica.

$C\overline{1s}$ manifiesta su acción enzimática proteolítica sucesivamente sobre C4 y C2, liberando de cada una de estas moléculas dos fragmentos, uno menor, que queda libre en el suero, y otro mayor, que irá a formar parte de un nuevo complejo enzimático responsable de la continuación de la secuencia.

La actuación de $C\overline{1s}$ sobre C4 libera de éste un pequeño péptido, C4a, con función de *anafilotoxina*. Constituye el primer producto de activación dotado de esta actividad, que se libera en el suero en el curso de la vía clásica. El fragmento mayor restante de C4, denominado C4b, manifiesta un sitio de unión lábil y de vida corta, en uno de los extremos de su molécula, que le permite unirse a receptores situados en la superficie de membranas celulares en un lugar próximo o al fragmento Fab de las Ig del inmunocomplejo. Si no se fija rápidamente, C4b queda en el suero en forma inactivada C4i.

En presencia de C4b fijado y Mg^{++}, $C\overline{1s}$ puede actuar sobre C2 de manera similar a la descrita sobre C4, y se libera un pequeño péptido (C2a), cuyo papel biológico se desconoce aunque se le ha atribuido una función de quinina, y un fragmento mayor C2b. Este último muestra un sitio de unión, también lábil, que le permite unirse a C4b previamente fijado y formar un complejo bimolecular $C\overline{4b,2b}$ (o $C\overline{4,2}$), dotado de una nueva actividad enzimática que expresará sobre C3. $C\overline{4,2}$ constituye la C3 convertasa de la activación por la vía clásica (fig. 21-1).

El componente C3 que interviene a continuación en la secuencia de activación es el elemento central y más importante de la vía clásica y, como veremos, también de la vía alternativa.

El complejo $C\overline{4,2}$ ó C3 convertasa actúa proteolíticamente sobre gran número de moléculas de C3, liberando de cada una de ellas dos fragmentos, C3a y C3b. Como en las reacciones precedentes, el péptido menor C3a es liberado en la circulación. Para este fragmento existen receptores específicos en las células cebadas y leucocitos polimorfonucleares; C3a se comporta como *anafilotoxina*. Tras su unión a dichos receptores provoca la liberación de histamina y enzimas celulares y la contracción de la musculatura lisa.

Por su parte, el fragmento C3b manifiesta un sitio de unión metaestable, gracias al cual puede unirse al complejo $C\overline{4,2}$ y a receptores específicos para C3b, existentes en una amplia gama de partículas biológicas.

La unión de C3b al complejo $C\overline{4,2}$ establece un nuevo complejo, ahora trimolecular ($C\overline{4b,2b,3b}$), dotado de actividad enzimática sobre C5 (C5 convertasa), que continuará la activación iniciando la secuencia de ataque a la membrana.

Vía alternativa

Activadores

La vía alternativa puede ser activada por lipopolisacáridos de la pared celular bacteriana (endotoxinas), que constituyen los activadores de mayor significación biológica (tabla 21-2). Existen, sin embargo, otros importantes activadores como son los extractos de levaduras (zimosán), polisacáridos bacterianos, agregados de IgG, IgA e IgE, ciertas células infectadas por virus, enzimas proteolíticas y el factor de veneno de cobra, sustancia que ha sido ampliamente utilizada para obtener en los animales de experimentación la depleción de C.

Reconocimiento y activación

El mecanismo exacto del reconocimiento y activación de la vía alternativa está aún sujeto a controversias, sobre todo en lo que se refiere a la necesaria existencia de una C3 convertasa inicial, que conduzca a la aparición de fragmentos C3b capaces de unirse a las partículas biológicas que se comportarán como activadores.

A diferencia de lo que ocurre en la vía clásica, en la vía alternativa los factores intervienen más en forma concertada que secuencial. Participan seis componentes (tabla 21-1), tres de los cuales (H, I y P) tienen fundamentalmente una función reguladora.

En la circulación se liberan constantemente pequeñas cantidades de fragmentos C3b. Según Muller-Eberhard (fig. 21-2), su origen se debe a la hidrólisis espontánea de la unión tioéster existente en la molécula nativa de C3, que provoca una modificación de la conformación de la molécula con manifestación de un sitio activo de unión para B. Esta molécula intacta, así modificada, tiene una propiedad de C3b (la capacidad de unirse a B) y se denomina por ello C3 «C3b-like». Se forma así un primer complejo C3,B, sobre el que actúa enzimáticamente $\overline{D}$, liberando un fragmento Ba, y se genera un complejo $C3,\overline{Bb}$ con acción proteolítica sobre C3, el cual libera los productos C3b iniciales, que, mediante su lugar de unión metastable, pueden unirse covalentemente a la superficie de partículas biológicas. Estos fragmentos C3b constituyen la unidad de reconocimiento de la vía alternativa, y la C3 convertasa inicial es el complejo $C3,\overline{Bb}$.

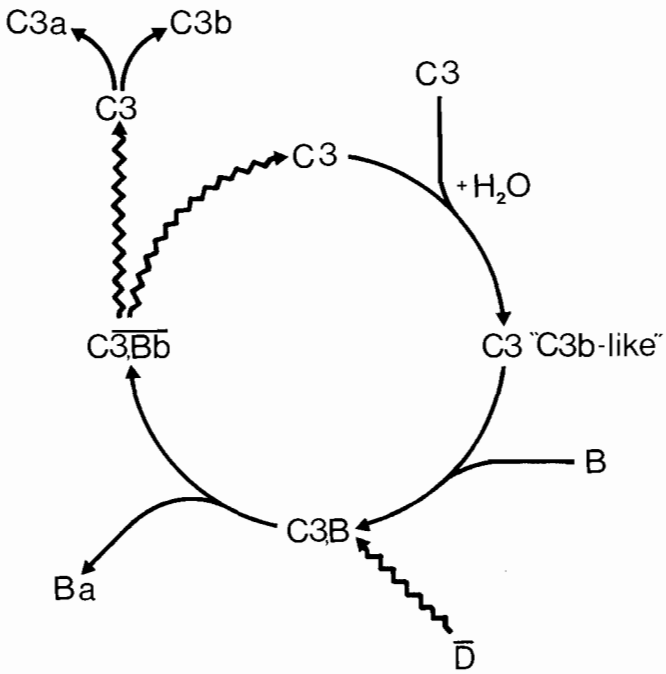


Fig. 21-2. Esquema del mecanismo de liberación en la circulación de moléculas C3b que permiten la iniciación de la vía alternativa.

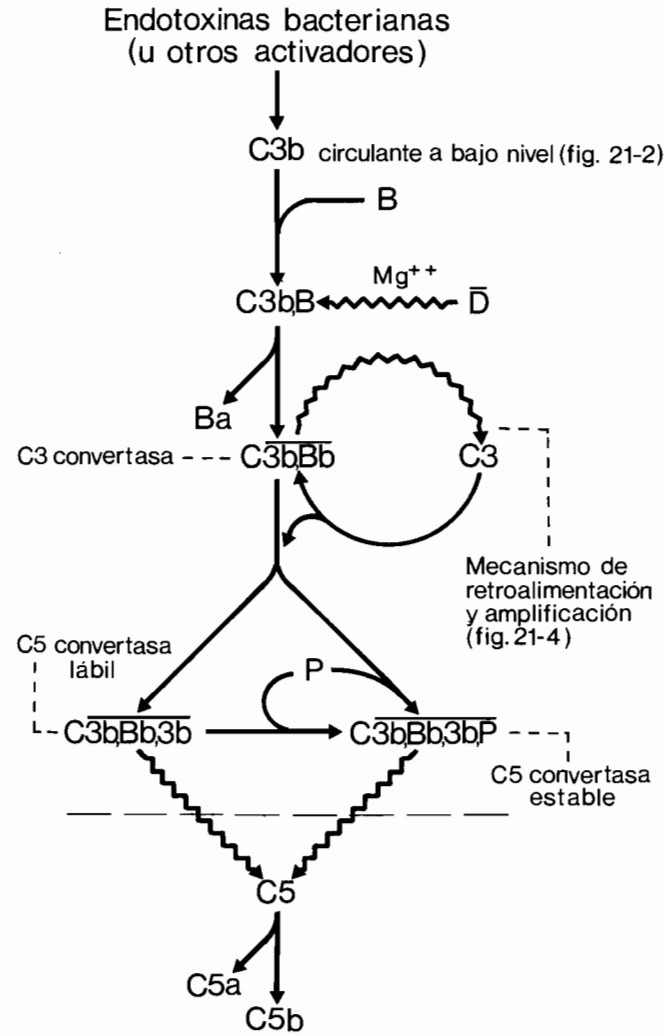


Fig. 21-3. Esquema simplificado de la activación por la vía alternativa. No se refleja la actuación de las proteínas reguladoras H e I.

La secuencia de activación de la vía alternativa se representa esquemáticamente y de forma simplificada en la figura 21-3.

Tras la unión de las moléculas C3b a un activador, interviene el factor B, y el complejo resultante C3b,B es atacado enzimáticamente por el factor D en presencia de iones Mg^{++}. La actuación de D libera un péptido Ba, cuya actividad se desconoce, y se constituye otro complejo, también bimolecular, ahora de composición C3b,Bb. El producto Bb tiene una actividad contraria a la citotaxina inhibiendo la migración de los fagocitos y provocando la dispersión celular. El complejo C3b,Bb está dotado de actividad enzimática que se expresa sobre C3; es la C3 convertasa de la vía alternativa. Su actuación libera de C3 los conocidos péptidos C3a y C3b.

En este punto de la secuencia se establece un mecanismo de retroalimentación positiva y amplificación que se detalla en el esquema de la figura 21-4. Cada molécula de C3b fijada puede repetir este proceso C3b-dependiente, y se establece un lazo o círculo en la secuencia que representa un peculiar y muy eficaz mecanismo de amplificación. Obviamente pertenece a la vía alternativa, pero en C3 ambas vías de activación confluyen y la vía clásica puede participar en la amplificación, puesto que se liberan fragmentos C3b por la acción del complejo C4,2.

Tras la crucial etapa C3 → C3b → C3b,B → C3b,Bb, este último complejo continúa la activación de la vía alternativa (fig. 21-4). La unión de una nueva molécula C3b al complejo C3b,Bb da lugar a la formación de un complejo trimolecular, C3b,Bb,3b, dotado de actividad C3/C5 convertasa, capaz de activar C5. Esta enzima es extremadamente lábil y pierde actividad rápidamente. La intervención de P (properdina), que se incorpora para formar un complejo tetramolecular C3b,Bb,3b,P, estabiliza la C3/C5 convertasa. P no es esencial para la activación, pero el sistema pierde considerable eficacia en su ausencia.

Las proteínas H e I actúan constantemente regulando la activación por la vía alternativa (v. más adelante).

Mecanismo de ataque a la membrana

La secuencia final de la activación del complemento es común para la vía clásica y la alternativa, y en ella intervienen cinco proteínas, C5, C6, C7, C8 y C9 (tabla 21-1). Estas proteínas son precursores de un complejo supramolecular de ataque a la membrana (CAM). En la figura 21-5 se representa esquemáticamente la secuencia de formación del CAM.

El mecanismo de ataque se inicia con la actuación enzimática de las C5 convertasas, C4b,2b,3b en la vía clásica y C3b,Bb,3b o C3b,Bb,3b,P en la alternativa. Recientemente se ha descrito que algunas enzimas, como la plasmina, pueden activar directamente C5.

C5 convertasa actúa sobre C5 y se libera un pequeño péptido C5a y un producto de conversión mayor C5b.

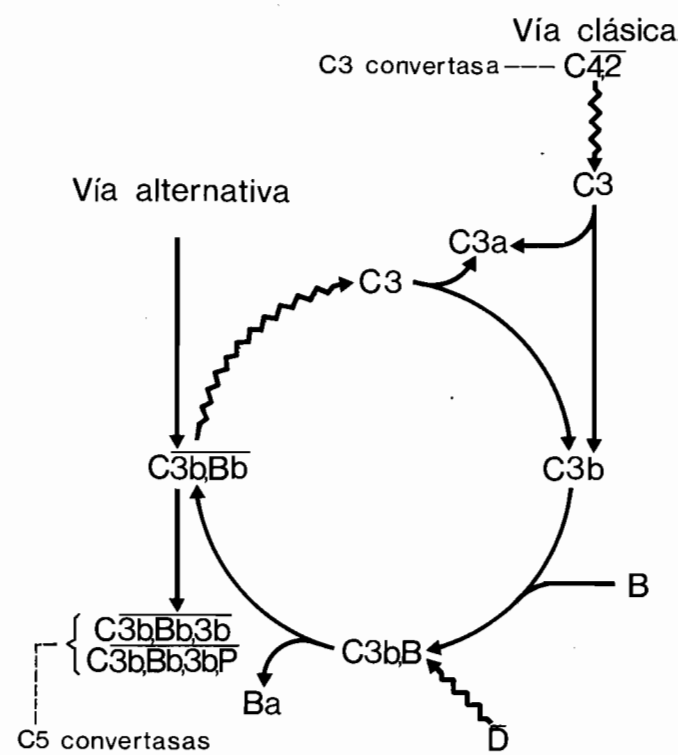


Fig. 21-4. Esquema simplificado del mecanismo de retroalimentación y amplificación de la vía alternativa.

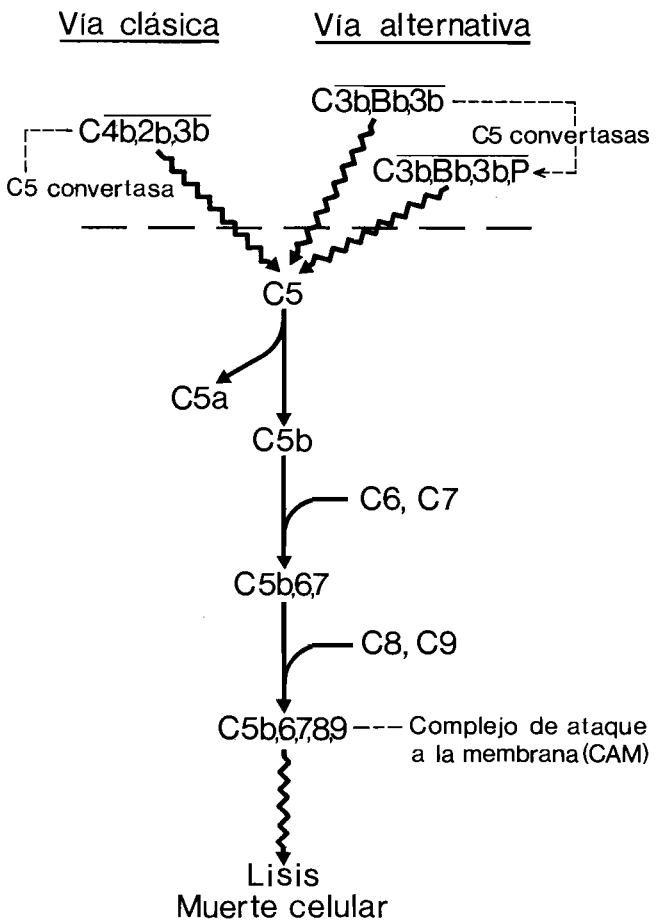


Fig. 21-5. Esquema simplificado del mecanismo de ataque a la membrana.

C5a, que pasa a la circulación, es una *anafilotoxina* para la que existen receptores específicos en las células cebadas y polimorfonucleares, los cuales son distintos de los receptores para C3a. Además, C5a tiene otra importante función; es una *citotaxina*, que presenta una actividad quimiotáctica por la que los leucocitos son atraídos a la zona donde tiene lugar la activación de C.

Por su parte, C5b presenta un sitio de unión para C6 y C7, y se forma un complejo C5b,6,7, que, a su vez, muestra un sitio de unión metaestable para la membrana celular y se fija a ella en las proximidades de C5 convertasa o incluso en las células vecinas. El complejo C5b,6,7 se comporta como *citotaxina* y atrae los leucocitos polimorfonucleares.

La formación del complejo C5b,6,7 representa el inicio de la formación del complejo supramolecular, denominado CAM, que presenta múltiples sitios de unión a fosfolípidos de la membrana. Tras la adición de C8 se expresa ya la lesión de la membrana; la incorporación de C9 aumenta los efectos lesionales del complejo.

Las superficies celulares lesionadas por el complejo muestran al microscopio electrónico finos orificios de unos 10 nm de diámetro. Por su parte, el CAM, estudiado también al microscopio electrónico, presenta una estructura en forma de cilindro hueco con un reborde circular en la porción distal a la membrana. El conjunto es tetradecamolecular con dos complejos C5b,6,7 en el reborde y 2 moléculas C8 y de 4 a 6 moléculas C9 en el cilindro vertical. Su peso molecular alcanza $1{,}6 \times 10^6$.

El mecanismo lesional del CAM sobre la membrana, aún incompletamente conocido, está ligado a su gran capacidad de fijación a los fosfolípidos, que ocasiona una desorganización de la doble capa lipídica y la creación de canales hidrofílicos proteicos o lipídicos responsables, junto con los efectos coloidoosmóticos, de la lisis celular.

Regulación

La activación del sistema complemento es regulada fundamentalmente por dos mecanismos. De una parte, los sitios de unión, manifestados en los productos de conversión o en los complejos enzimáticos, presentan con frecuencia una intensa fugacidad funcional, lo que supone que buen número de moléculas resulten inactivas antes de conseguir su unión a partículas biológicas u otros componentes del sistema. Por otra parte, diversos factores actúan específicamente como reguladores, bien sea ésta su función exclusiva o participen, además, en la propia activación.

En la vía clásica, la activación de C4 está regulada por la inhibición que produce una proteína denominada $C\overline{1}$ inactivador. En el complejo C4b,2b, la subunidad C4b estabiliza el complejo y regula la actividad C3 convertasa que reside en la subunidad C2b. La fugacidad funcional de los sitios activos de ambas subunidades explica que, aunque la amplificación es considerable, el proceso es relativamente poco eficaz en esta etapa. Por otro lado, la proteína denominada «proteína ligadora de C4» desestabiliza el complejo C4b,2b facilitando la disociación de C2b.

La regulación es especialmente importante y compleja en la activación del factor C3. La amplificación que representa la retroalimentación C3b-dependiente, ya descrita, depende de la concentración existente del complejo $\overline{C3b,Bb}$ y está regulada por las proteínas H e I. La estabilidad del complejo $\overline{C3b,Bb}$ mantiene la activación de nuevas moléculas C3, mientras su disociación reduce dicha activación. En la disociación del complejo se libera Bbi (inactivo, no reutilizable) y C3b, capaz de reaccionar con otra molécula de B para formar de nuevo $\overline{C3b,Bb}$. El factor H, presente en el suero en concentración considerable, puede también unirse a C3b en un sitio distinto del utilizado por B, y se forma otro complejo de fórmula C3b,H. Este complejo es entonces sensible a la acción hidrolítica del factor I, presente en forma activa en el suero; su actuación libera fragmentos inactivos iC3b, no reutilizables en el proceso. De esta forma, la competición entre B y H y la inactivación de C3b por I (en presencia de H) regulan la retroalimentación y, en definitiva, la extensión de la activación del sistema.

Conocido el mecanismo de actuación de las proteínas H e I, resta por dilucidar cómo ejerce el sistema la discriminación entre activadores y no activadores. Libre en la circulación o unido a partículas no activadoras, C3b es inactivado sin que ocurra amplificación significativa. Por el contrario, C3b unido a activadores de la vía alternativa es inactivado más lentamente y ocurre la amplificación. Es evidente que C3b unido a activadores está en cierta manera protegido de la destrucción por I en presencia de H. Se postula que el sitio de unión de C3b es capaz de interaccionar con algunas estructuras comunes a los activadores que no existirían en los no activadores; dicha interacción desactivaría o debili-

taría en C3b el sitio de unión para la proteína H, sin cuya intervención no puede actuar la proteína I.

La importancia biológica de los productos de degradación de C3 no termina en la liberación del fragmento inactivo iC3b. Dicho fragmento sufre la actuación posterior de enzimas trípticas que liberan dos nuevos péptidos denominados C3c (el mayor) y C3d, y la actuación de nuevas enzimas trípticas degrada C3c, con liberación de un pequeño fragmento C3e. La actividad biológica de estos productos de degradación es mal conocida, pero se sabe que algunos fagocitos presentan receptores específicos para iC3b y algunos linfocitos para C3d (en ambos casos distintos de los receptores para C3b), y que el péptido C3e tiene actividad inductora de la fagocitosis. Es probable, por consiguiente, que estos productos desempeñen un papel importante en algunos mecanismos que involucran diversos sistemas celulares.

Finalmente, otros factores reguladores son la carboxipeptidasa B sérica (inactivador de anafilotoxina), que inactiva los fragmentos C3a y C5a, y la proteína S, que regula el ensamblaje de los precursores del CAM inactivando el complejo en formación cuando se une a él.

FUNCIONES BIOLOGICAS

El sistema complemento desempeña un papel capital en múltiples circunstancias fisiológicas y patológicas. Sus funciones se pueden incluir en dos apartados, según que contribuyan a la defensa del individuo o intervengan patogénicamente en el establecimiento o extensión de un daño celular o tisular. Sin embargo, esta distinción, útil a los fines meramente didácticos, es artificiosa, por cuanto los mecanismos básicos que intervienen son los mismos en un caso y otro, y se distinguen fundamentalmente por la intensidad de la activación y la eficacia de su regulación, y por las circunstancias en que tienen lugar.

El papel fisiológico del sistema en el mantenimiento del estado normal de salud se ha demostrado de forma concluyente en la experimentación animal y se confirma en la susceptibilidad aumentada a las infecciones que presentan los sujetos portadores de deficiencias congénitas o adquiridas del complemento.

Funciones fisiológicas

El sistema complemento actúa a través de su participación en la citólisis, fagocitosis e inflamación y, probablemente, en otros procesos relativos a la resistencia no específica y a la inmunidad adquirida.

Citólisis o citotoxicidad

La lisis celular *in vivo* es un fenómeno mediado por el sistema complemento y resultado de la activación del mecanismo de ataque a la membrana celular (C5 a C9). Las células afectadas pueden ser tanto bacterias (bacteriólisis) como hematíes (hemólisis) o células nucleadas (células tumorales, linfocitos, etc.). La citólisis (o el daño celular) puede tener lugar por dos mecanismos:

1. Por activación de la vía clásica. Es, en general, anticuerpo-dependiente al iniciarse por la presencia de inmunocomplejos. La bacteriólisis inmune, descrita por Pfeiffer con vibrión colérico, es un mecanismo de la inmunidad adquirida de gran importancia en la defensa del huésped frente a las infecciones bacterianas, sobre todo por microorganismos gramnegativos.

2. Por activación de la vía alternativa. La activación a partir de C3 por la presencia de endotoxinas bacterianas es un mecanismo de la resistencia no específica, que probablemente tiene tanta o mayor importancia que la bacteriólisis anticuerpo-dependiente en la defensa frente a las infecciones.

La citólisis, o la lesión citotóxica, sobre células de los tejidos, puede tener unas consecuencias también favorables (p. ej., participar en la inmunovigilancia y destrucción de células tumorales).

Cuando la activación del C tiene lugar en presencia de partículas víricas, la unión de fragmentos (como C4b) a las proteínas víricas de superficie puede representar la neutralización de la infectividad.

Fagocitosis

En el curso de la activación del sistema complemento se producen una serie de fragmentos dotados de propiedades biológicas facilitadoras de la fagocitosis. Esta propiedad general de los macrófagos y polimorfonucleares se manifiesta en ausencia de anticuerpos, es decir, como un mecanismo de la resistencia no específica. Sin embargo, la fagocitosis se incrementa de modo considerable en el curso de la activación del complemento, tanto en la respuesta inmunitaria humoral (en la que los anticuerpos pueden ser por sí mismos opsonizantes) como en ausencia de anticuerpos.

Los fagocitos (macrófagos, monocitos, polimorfonucleares) presentan en la superficie de su membrana celular receptores específicos para el fragmento C4b y, sobre todo, el fragmento C3b (y algunos de los productos de la ulterior degradación de este último). C3b y C4b se comportan por ello como *opsoninas*, pues al adherir el Ag al fagocito favorecen directamente la fagocitosis.

Por otra parte, además de hallarse en los fagocitos, en la superficie de otras células (sobre todo hematíes y plaquetas) existen también receptores específicos para C3b y sus productos de degradación. Esto representa la adherencia de los inmunocomplejos o partículas revestidas por el C activado a diversos sistemas celulares *(inmunoadherencia)*, que ocasiona su inmovilización y la formación de agregados, circunstancias que facilitan la fagocitosis.

Además, los fragmentos C3b fijados presentan una configuración molecular distinta de la molécula nativa, lo que explica la presencia de un autoanticuerpo «natural» (inmunoconglutinina), que, al producir una aglutinación de pequeños complejos con C3 fijado *(inmunoconglutinación)*, permite su fácil fagocitosis.

Inflamación

El sistema complemento contiene una amplia gama de sustratos que pueden generar mediadores de la inflamación aguda, los cuales actúan sobre todo por sus propiedades anafilotóxicas y quimiotácticas.

La función anafilotóxica radica fundamentalmente en los péptidos C4a, C3a y C5a, para los cuales existen receptores independientes en las plaquetas y, sobre todo, en las células cebadas. La unión de estos fragmentos a sus respectivos receptores ocasiona la liberación de histamina y tiene como consecuencia la contracción del músculo liso y el aumento de la permeabilidad vascular. Por ello, en el área afectada aumenta el aflujo de factores humorales (Ac, complemento) y celulares (fagocitos).

El fragmento C5a y el complejo C5a,6,7 se comportan como citotaxinas. Su presencia atrae los leucocitos polimorfonucleares y los macrófagos al lugar en que se produce la activación. En la migración de los fagocitos intervienen también probablemente otros productos generados en la activación.

La inflamación aguda es también potenciada por la activación del complemento a través de otros mecanismos que intervienen de forma concertada, por ejemplo, la liberación de enzimas lisosomales por los polimorfonucleares a los que se adhieren factores del C; la liberación de sustancias vasoactivas por las plaquetas a las que también pueden adherirse determinados péptidos, y la actividad de quinina manifestada por los productos de degradación de C2 (y probablemente de C4, y por C3a).

El desarrollo de la respuesta inflamatoria y la fagocitosis tienen obviamente una finalidad defensiva al perseguir la localización de los microorganismos, partículas y células extrañas, restos celulares, etc. y procurar su destrucción. Sin embargo, estos mismos procesos ejercidos de forma indiscriminada pueden resultar manifiestamente desfavorables.

Otras funciones

Es particularmente significativa la presencia de receptores para C3b y C4b en la superficie de los linfocitos B, receptores que no están presentes en los linfocitos T. Resulta, así, que muchos de los sistemas celulares involucrados en el procesamiento de los Ag para la respuesta inmunitaria (macrófagos, células B) tienen receptores para componentes del complemento. En la actualidad existen ya suficientes datos experimentales de que el complemento regula la movilización de los macrófagos, y diversas experiencias sugieren que participa también en la transformación linfocitaria, en la liberación de linfoquinas y en la síntesis de anticuerpos.

Por otra parte, los genes que codifican algunos de los componentes del C (concretamente C2, C4 y B) están localizados, en el hombre y en el ratón, en el complejo mayor de histocompatibilidad, muy próximos a los genes Ir que regulan la respuesta inmune. Es lógico, por consiguiente, que se considere que el sistema complemento puede desempeñar en la respuesta inmune otros importantes papeles aún no conocidos. Esto no haría sino reafirmar la enorme significación biológica del sistema.

Intervención patogénica

El sistema complemento desempeña un importante papel en la patogenia de diversas enfermedades y procesos patológicos, que pueden clasificarse en tres categorías: 1) procesos de cuya patogenia es responsable, en mayor o menor grado, la activación del sistema; 2) procesos consecutivos a deficiencia de alguno, o algunos, de los factores, y 3) procesos en los que se registra un hiperconsumo de complemento.

Activación patogénica

Hipersensibilidad citotóxica. Los fenómenos de hipersensibilidad citotóxica, tipo II de Gell y Coombs, manifiestan una respuesta humoral con aparición de Ac frente a antígenos celulares, cuya reacción con las células diana, en presencia de complemento, conduce a la destrucción de estas células y también de células inocentes. La destrucción celular se produce por la actuación patológica de los mecanismos de citólisis o citotoxicidad, fagocitosis y liberación de mediadores de la inflamación ya descritos. Son procesos de este tipo las reacciones aloinmunes transfusionales o de incompatibilidad Rh, algunas enfermedades autoinmunes inducidas por virus y por medicamentos, y los procesos de rechazo de trasplantes (en los que los Ac y el C potencian los fenómenos de hipersensibilidad celular).

Hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos. En los fenómenos de hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos, tipo III de Gell y Coombs, la precipitación de dichos inmunocomplejos a nivel local y en determinados territorios vasculares representa una activación patogénica del sistema complemento. El fenómeno de Arthus y la enfermedad del suero obedecen a esta patogenia. En gran número de procesos que cursan con vasculitis se reconoce un mecanismo similar.

Shock endotóxico. En el curso de las bacteriemias por microorganismos gramnegativos se presenta en ocasiones un temible cuadro denominado shock endotóxico que cursa con marcada trombocitopenia y, a veces, coagulación intravascular diseminada. La activación del complemento por la vía alternativa, por la presencia de endotoxinas, parece ser la responsable del shock. Los experimentos en conejos muestran que los animales normales mueren con un cuadro de shock tras la inyección intravenosa de endotoxinas, mientras los que muestran depleción de los factores C5 a C9 no presentan tal cuadro. Aunque estas experiencias no son superponibles al shock endotóxico espontáneo en el hombre, en éste existe un marcado descenso de los factores B, P y C3 a C9. Los productos de la activación incontrolada, que actúan sobre las superficies vasculares y celulares en las que se sitúa la endotoxina, son más perjudiciales que la propia acción de ésta sobre el territorio vascular.

Deficiencias

En el hombre, las deficiencias en el sistema complemento son relativamente raras y pueden afectar tanto factores de la activación como las proteínas reguladoras. Constituyen anomalías hereditarias, que en general se transmiten en forma autosómica recesiva. Existe ausencia total del factor en los sujetos homozigotos y disminución de su concentración sérica en los heterozigotos. Las deficiencias en el complemento se asocian con gran frecuencia con el lupus eritematoso sistémico (LES), o síndromes tipo LES, y con diversas enfermedades reumáticas.

Tabla 21-3. Principales deficiencias del sistema complemento en el hombre

Componente	Manifestaciones clínicas asociadas más frecuentes	Susceptibilidad a las infecciones
C1q	Asociación con hipogammaglobulinemia	
C1r	LES	
C1s	LES	
C4	LES	
C2	LES	+
	Glomerulonefritis	
C3		+
C5 (disfunción)	LES	+
C6	Gonococemia	
	Meningococemia	
C7	Diversas enfermedades reumáticas	+
C8	Gonococemia	
C1 inhibidor	Edema angioneurótico hereditario	
	LES	
I	Depleción de C3 y C5 a C9	+

LES: Lupus eritematoso sistémico o síndrome tipo LES.

Por el contrario, la mayor susceptibilidad a las infecciones es muy inconstante, incluso en los deficientes homozigotos. En este aspecto, destacan las infecciones bacteriémicas por neisserias, observadas en las deficiencias en C6 y C8, y las infecciones piógenas de repetición señaladas en los déficit en C2, C3, C5 e I. En la tabla 21-3 se resumen las principales deficiencias del sistema complemento y sus manifestaciones clínicas.

Niveles disminuidos

En diversos procesos patológicos se encuentran niveles disminuidos de complemento como consecuencia de un aumento de consumo. Esto ocurre en algunos períodos de enfermedades autoinmunes, como el LES, artritis reumatoide y determinadas anemias hemolíticas, y también puede observarse en pacientes con infecciones crónicas o repetidas.

En las afecciones hepáticas severas pueden hallarse niveles disminuidos de algunos factores como consecuencia de alteración de la síntesis proteica.

BIBLIOGRAFIA

Bach, J. F.: Immunologie, 2.ª ed. Ed. Flammarion, Paris, 1979.

Fudemberg, H. H.: Stites, D. D., Caldwell, J. L., y Wells, J. V.: Basic and clinical immunology, 3.ª ed. Ed. Lange, Los Altos, California, 1980.

Muller-Eberhard, H. J.: Complement reactions pathways: En M. Fougereau y J. Dausset (dirs.): Progress in Immunology, IV, 1001-1024. Academic Press, London, 1980.

Muller-Eberhard, H. J., y Schreiber, R. D.: Molecular biology and chemistry of the alternative pathway of complement. Adv. Immunol., 29, 1-53, Academic Press, London, 1980.

Parker, Ch. W.: Clinical Immunology. W. B. Saunders, Philadelphia, 1980.

Porter, R. R., y Reid, B. M.: The biochemistry of complement. Nature, 275, 699-704, 1978.

Capítulo 22

Reacciones antígeno-anticuerpo

Antonio Rodríguez-Torres

La cualidad más sobresaliente de los Ac es su capacidad de unirse específicamente al Ag. Esta unión tiene lugar tanto *in vitro* como *in vivo* y puede ponerse de manifiesto por diversas técnicas que constituyen los *métodos serológicos*, así llamados porque el suero sanguíneo es el vehículo habitual de los Ac.

La *reacción primaria* consiste en la combinación del grupo determinante del Ag (epitope) con la zona combinante existente en el fragmento Fab del Ac (paratope). La unión es consecuencia de la geometría tridimensional complementaria existente en ambas porciones moleculares y es el resultado de la *especificidad*. El mecanismo físico-químico de la combinación responde al establecimiento de fuerzas intermoleculares no covalentes, como son las uniones iónicas entre grupos químicos de carga diferente, los enlaces hidrógeno e hidrofóbicos, y la manifestación de fuerzas de Van der Waals por la existencia de momentos dipolares instantáneos en las moléculas aun cuando no posean cargas eléctricas permanentes. Estas fuerzas actúan tanto más intensamente cuanto mayor es la complementariedad entre el grupo determinante y la zona combinante.

El hecho de que la unión Ag-Ac sea fundamentalmente electrostática y no covalente supone que la reacción es *reversible*. El complejo formado se disocia de acuerdo con la ley de acción de las masas, como se expresa en la ecuación:

$$Ag + Ac \underset{K_2}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} Ag\text{–}Ac$$

K_1 y K_2 son constantes que expresan la tendencia al equilibrio de la reacción en un sentido u otro. La constante de equilibrio se expresa:

$$K_{1,2} = \frac{K_1}{K_2} = \frac{(Ag\text{–}Ac)}{(Ag)+(Ac)}$$

En un sistema Ag-Ac intervienen fuerzas de unión cuyo grado es la *afinidad* del sistema. Este concepto de afinidad, también llamada afinidad intrínseca, sólo es aplicable a los sistemas formados por un Ac y un hapteno monovalente. Frente a este tipo de haptenos, los antisueros pueden contener Ac con diferentes afinidades, y se habla de Ac de alta o baja afinidad de acuerdo con el grado de las fuerzas que interaccionan en el complejo. En los complejos formados por Ac y Ag completos, en la estabilidad del complejo interviene la afinidad, pero también otros factores como el establecimiento de uniones múltiples y la participación de Ac diversos frente a un mismo Ag multivalente. En este caso, la fuerza de unión del complejo se denomina *avidez*, que puede medirse por el grado de disociación que ocurre tras su formación. La avidez de un antisuero se mide por el tiempo requerido para la disociación de una cantidad dada de antígeno.

La reversibilidad de la reacción Ag-Ac permite el aislamiento de Ag o Ac mediante el uso de *inmunoabsorbentes*. Diversas sustancias, como la bentonita o la sefarosa, pueden unir covalentemente Ag o Ac en la superficie de sus partículas. De esta forma, por ejemplo, un antisuero frente a una proteína puede copularse a un portador insoluble; al añadir una solución de proteínas que contenga el Ag específico, éste se unirá al Ac insolubilizado. Tras un lavado para eliminar las proteínas no unidas al Ac, un suave descenso del pH será suficiente para provocar la disociación del inmunocomplejo, pero no para disociar el Ac del inmunoabsorbente. En definitiva, se obtendrá el Ag purificado.

La reacción primaria Ag-Ac no es observable, pero puede demostrarse con diversos métodos denominados *primarios*, algunos de los cuales son los más sensibles para la detección de Ag o Ac (radioinmunoanálisis, enzimoinmunoanálisis, inmunofluorescencia).

Los métodos *secundarios* se basan en fenómenos que son consecuencia directa, pero no obligada, de la reacción primaria. En efecto, en determinados sistemas Ag-Ac *in vitro*, a la formación del complejo sigue una *segunda etapa* no específica que depende de los Ag y Ac implicados y de las condiciones de la experiencia. Recordemos que los Ag son multivalentes y los Ac, en general, bivalentes (IgG). Esto hace posible, según la teoría de Marrack, la formación espontánea de una red tridimensional que conduce a la formación de agregados que se hacen visibles. Esto es lo que ocurre en las reacciones de precipitación y aglutinación, en las que los Ag y Ac no se combinan en proporciones definidas, sino múltiples, que dependen fundamentalmente de la concentración respectiva Ag-Ac. La formación de los inmunocomplejos puede tener como manifestación secundaria la activación del complemento y la lisis celular; en la reacción de fijación del complemento se utiliza un artificio técnico para demostrar la formación de los inmunocomplejos por su capacidad para activar el C. Las reacciones Ag-Ac pueden producir otros efectos de muy variada naturaleza, en los

que con frecuencia interviene también el complemento, demostrables igualmente por métodos secundarios (inmunoadherencia, inmunoconglutinación, opsonización, inmovilización de treponemas, citotoxicidad, quimiotaxis). Las reacciones de neutralización se basan, por su parte, en la pérdida de acciones biológicas de los Ag tras su unión con el Ac correspondiente (toxina-antitoxina, neutralización vírica).

Las consecuencias biológicas *in vivo* de la reacción Ag-Ac se estudian mediante los denominados métodos *terciarios* (pruebas de protección, anafilaxia cutánea pasiva), cuya complejidad está incrementada con la variabilidad propia de la experimentación animal.

Las reacciones serológicas son extraordinariamente útiles, porque permiten estudiar Ag disponiendo de Ac conocidos y viceversa. Pueden emplearse con fines cualitativos o cuantitativos. En el primer caso se persigue únicamente conocer la presencia de un Ag o Ac dados; en el segundo se pretende dosificar los Ac existentes en la reacción. Esta determinación cuantitativa puede hacerse de forma aproximada o convencional mediante la delimitación del *título de Ac* de un suero, que será la mínima cantidad que sigue manifestando el fenómeno observable proporcionado en la reacción, frente a una cantidad estándar del Ag. En algunas reacciones, sin embargo, la dosificación puede ser exacta y el resultado se expresa en microgramos de Ac o Ag por mililitro (reacciones cuantitativas en sentido estricto).

Cualquier prueba serológica se caracteriza por dos propiedades, su especificidad y su sensibilidad. La capacidad que presenta un antisuero para discriminar entre antígenos o haptenos de estructura similar es la *especificidad* de la reacción. La cantidad de Ac o Ag que es capaz de detectar define su *sensibilidad*. Entre las múltiples reacciones serológicas actualmente de uso común, son notables las diferencias en ambas propiedades, sobre todo en la sensibilidad (tabla 22-1).

La reacción entre un Ag determinado (Ag X) y su Ac correspondiente puede ser inhibida si en una fase previa se pone en contacto dicho Ac con un Ag ($Ag\ X_1$) capaz también de unirse a él, es decir:

$$Ag\ X_1 + Ac \longrightarrow \text{Reacción para formar } Ag\ X_1 - Ac.$$

En la segunda fase:

$$Ag\ X + Ag\ X_1 - Ac \longrightarrow \text{No se produce la reacción.}$$

El inmunocomplejo Ag X-Ac no puede formarse porque las zonas combinantes del Ac estaban ocupadas previamente por los grupos determinantes del $Ag\ X_1$. La reacción puede también bloquearse de forma parcial.

Este es el fundamento de las *reacciones de inhibición*, que se caracterizan por su gran sensibilidad y especificidad. Cualquier reacción Ag-Ac puede ser inhibida en experiencias de este tipo, en especial la precipitación, aglutinación pasiva y fijación del complemento, y de hecho algunos métodos serológicos, como el radioinmunoanálisis, se utilizan frecuentemente en la modalidad de inhibición. Las reacciones de este tipo tienen importantes aplicaciones en inmunología clínica y en inmunología fundamental.

En muchas ocasiones interesa *determinar y cuantificar las Ig específicas* (IgG, IgM, IgA, IgE) frente a un determinado Ag. Esto puede conseguirse aislando previamente las diferentes Ig del suero mediante diversas técnicas generalmente combinadas (filtración en gel, diversos tipos de cromatografía, utilización de inmunoabsorbentes, etc.). Las reacciones primarias (inmunofluorescencia, RIA, ELISA) permiten la determinación directa de las Ig implicadas, si los anticuerpos marcados son específicos frente a una sola clase de Ig. En la práctica habitual, por otra parte, puede determinarse si los anticuerpos presentes en una reacción de aglutinación corresponden a IgG o IgM. Basta practicar una segunda prueba en la que se incluyan agentes reductores, como 2-mercaptoetanol o 1,4-dithiotreitol; estos agentes, al romper los enlaces disulfuro, destruyen la manifestación anticuerpo atribuible a las IgM.

Tabla 22-1. Sensibilidad de algunas pruebas serológicas: concentraciones mínimas de anticuerpos detectables

Prueba	µg de N anticuerpo/ml
Precipitación en medio líquido	3-20
Inmunoelectroforesis	3-20
Inmunodifusión radial	3-10
Inmunodifusión doble	3-10
Aglutinación directa	0,01-0,5
Hemaglutinación pasiva	0,001-0,01
Coombs	0,01-0,5
Fijación del complemento	0,1
Neutralización de toxinas	0,01
Inmunofluorescencia	0,1
Enzimoinmunoanálisis	< 0,001
Radioinmunoanálisis	< 0,001
Anafilaxia cutánea pasiva	0,003

La *serología*, tecnología que se ocupa de los métodos serológicos, se ha desarrollado enormemente en los últimos años, y se han introducido múltiples variantes y perfeccionamientos en las ya numerosas técnicas básicas. La fiabilidad y reproductividad de cualquier prueba dependen de la calidad de los reactivos empleados y del riguroso control y valoración de los diversos elementos que intervienen en la reacción, lo que es tanto más importante cuanto más sofisticada sea la prueba que hay que realizar. En cualquier caso, aun una prueba sencilla como la aglutinación bacteriana requiere reactivos estandarizados y los adecuados controles positivos y negativos para la correcta interpretación de los resultados.

La introducción de los *anticuerpos monoclonales* ha representado una impresionante revolución en las técnicas serológicas. Dado que estos anticuerpos identifican un solo determinante antigénico, permiten reconocer, por ejemplo, los receptores de superficie de las diversas subpoblaciones de linfocitos T en reacciones de inmunofluorescencia o enzimoinmunoanálisis. Frente a esta extraordinaria especificidad, los anticuerpos monoclonales presentan una afinidad bastante baja y no funcionan en general en las reacciones que suponen la existencia de uniones cruzadas (precipitación, aglutinación). Por esto se utilizan fundamentalmente en reacciones primarias, sobre todo por métodos indirectos, ya que, además, los anticuerpos monoclonales pierden parte de su especificidad al ser marcados.

REACCION DE PRECIPITACION

La *reacción de precipitación* (RP) es la más simple de las reacciones Ag-Ac y consiste en la aparición de un precipita-

do visible cuando se enfrenta un Ag soluble y su inmunosuero correspondiente.

La RP tiene dos características que conviene tener presentes:

1. Es una reacción poco sensible; necesita la presencia de cantidades relativamente altas de Ac. Cantidades inferiores a 3 μg de nitrógeno Ac por mililitro no se detectan por precipitación.
2. No todos los Ac son precipitantes. Los Ac más eficaces en la precipitación pertenecen a las IgG.

Por consiguiente, la ausencia de precipitación en un sistema dado no indica que no existan anticuerpos en el suero frente al Ag ensayado; pueden encontrarse en cantidad insuficiente o no ser precipitantes.

Frente a estas dos características, que limitan en cierto modo su aplicación práctica, la RP es *altamente específica* y *puede cuantificarse de manera precisa*. Por estos motivos, la RP tiene poca utilidad en el diagnóstico serológico de las enfermedades infecciosas, pero resulta inestimable en inmunología fundamental para la investigación de antígenos y anticuerpos.

La reacción sólo se produce si existen electrólitos en el medio y el complemento no interviene en ella. Muchos factores influyen en la RP, y son especialmente importantes el pH del medio y la temperatura. La neutralidad del pH favorece la reacción, que es más rápida a 37-45 °C, pero más notable a 4 °C.

Estudiaremos la RP cuando se produce en un medio líquido y en uno *gelificado* (medio solidificado por la incorporación de agar, gelatina, celulosa, etc.).

Precipitación en medio líquido

La mezcla de Ag soluble y su inmunosuero en un tubo da lugar a un precipitado visible únicamente si la proporción de Ag y Ac es adecuada. Por ello, la reacción *cualitativa* se efectúa de ordinario mediante la *prueba del anillo* o de precipitación en la interfase. Esta técnica, que permite identificar Ag disponiendo de los antisueros correspondientes, se realiza en tubos de pequeño diámetro. Se deposita en el fondo el antisuero y se deja resbalar por la pared del tubo una dilución adecuada del Ag que se sitúa sobre aquél. Junto a la interfase de ambos líquidos se produce un disco de precipitación blanquecino («anillo»), si el Ac y el Ag son homólogos.

La prueba del anillo se utiliza en la investigación de Ag bacterianos en los tejidos (carbunco, peste), en la determinación del grupo serológico de Lancefield a que pertenece un estreptococo aislado en clínica (proteína M) y en la investigación de la proteína C reactiva en enfermos reumáticos. Teniendo en cuenta la especificidad de especie de los Ag tisulares y humorales de los diversos animales y la posibilidad de preparar antisueros frente a ellos, la precipitación en la interfase tiene interesantes aplicaciones en otros campos, como son la identificación de manchas de sangre y otros líquidos biológicos en medicina legal, la detección de fraudes de charcutería en la inspección bromatológica o el estudio de los hábitos de picadura de los insectos hematófagos en epidemiología.

La RP *cuantitativa* se realiza en una batería de tubos, añadiendo habitualmente dosis crecientes de Ag a cantidades constantes de Ac. Tras un período de incubación adecuado, aparece en los tubos un fino precipitado, cuya cantidad varía de unos tubos a otros. La cantidad de precipitado formado se puede medir por nefelometría (determinando el grado de turbidez), por volumetría (en los tubos previamente centrifugados) o dosificando las proteínas presentes en el sedimento. Los resultados obtenidos por cualquiera de estos métodos se pueden llevar a un eje de coordenadas y obtenerse una curva como la que se refleja en la figura 22-1.

Si se estudian los sobrenadantes, mediante la prueba del anillo, enfrentándolos con Ag y Ac, se observa que en los primeros tubos de la serie existe Ac en el sobrenadante, que no ha precipitado (zona de exceso de Ac), y en los últimos, Ag que tampoco ha precipitado (zona de exceso de Ag); en el tubo central, o a lo sumo en pocos tubos centrales, los sobrenadantes no presentan Ag ni Ac (zona de equivalencia). El precipitado tiene una composición variable que depende de las concentraciones respectivas de Ac y Ag. En la zona de exceso de Ac, la relación Ac-Ag es alta, mientras en la zona de exceso de Ag, la relación es muy baja y tiende a la unidad. En la zona de equivalencia, el Ag y el Ac se combinan totalmente en una relación determinada, que es constante y característica para cada sistema inmunológico, y se forma una red tridimensional continua y amplia (fig. 22-2). La zona de equivalencia es muy estrecha y puede a veces limitarse a un punto.

En exceso de Ac y en equivalencia, todos los complejos formados precipitan. En la zona de exceso de Ag existe una inhibición de la precipitación que llega a suprimirse por completo en la zona de gran exceso de Ag. Por electroforesis y ultracentrifugación se puede demostrar en la zona de exceso de Ag la presencia de complejos solubles, cuyo estudio aportó el primer argumento experimental de la bivalencia de los Ac, puesto que la relación Ac-Ag de estos complejos solubles es de 1/2.

El estudio de una reacción de precipitación de este tipo permite cuantificar de manera exacta los anticuerpos presentes en un suero; de ahí su extraordinario interés. Para ello se determina la zona de equivalencia, cuyo precipitado contendrá todo el Ag y todo el Ac. En dicho precipitado, cuidadosamente lavado, se puede determinar la cantidad de proteínas presentes o, lo que es lo mismo, la cantidad de N. La determinación puede realizarse por el micrométodo de Kjeldall; puesto que las proteínas contienen un 16 % de N, bastará multiplicar la cifra hallada por 6,25 para conocer el peso de proteínas presentes. La dosificación del N puede ser reemplazada por métodos más rápidos y sensibles, que miden las proteínas del precipitado tras su solubilización por espectrofotometría UV, métodos colorimétricos del biuret, de Folin o de la ninhidrina. Cuando el Ag utilizado es de naturaleza poliósida, todas las proteínas del precipitado corresponderán al Ac; si el Ag es proteico, la determinación es más complicada y debe estudiarse previamente su contenido en proteína y restar éste del total del precipitado.

Además de medir la cantidad de precipitado, la RP permite valorar otro parámetro: el *tiempo de aparición del precipitado*. Este tiempo depende de factores mecánicos (agitación), temperatura, concentración salina y pH, pero sobre todo de la relación Ac-Ag.

Si se preparan una serie de tubos que contengan cantidades constantes del antisuero y cifras crecientes de toxina diftérica (técnica de Dean y Webb) y se incuban a 37 °C, la precipitación aparece más precozmente en el tubo que con-

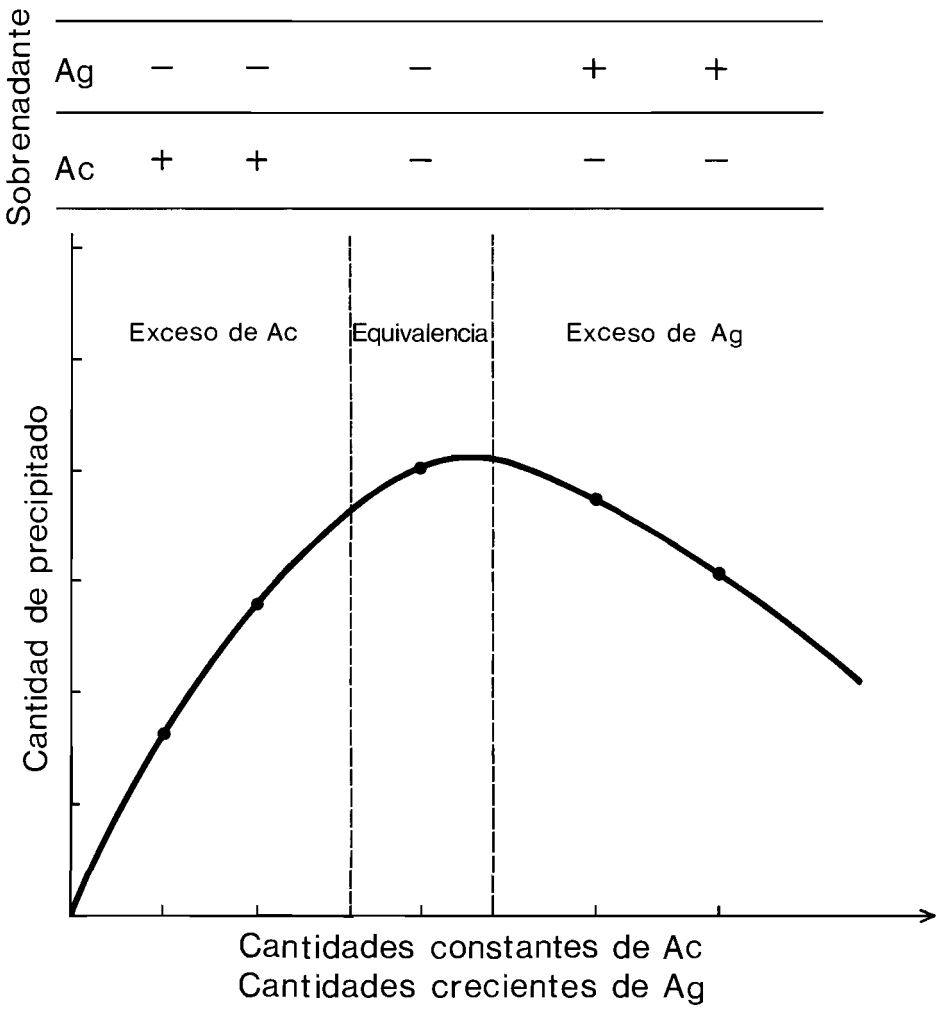


Fig. 22-1. Curva de precipitación cuantitativa.

tiene Ag y Ac en su relación óptima, es decir, en la zona de equivalencia. Como la relación Ac-Ag es constante en dicha zona para un sistema dado, conociendo el título del Ag se pueden dosificar Ac y viceversa. Lo mismo puede realizarse con cantidades constantes de Ag y variables de antisuero (técnica de Ramon).

Las RP en las que se determina el tiempo de aparición del precipitado se denominan *reacciones de floculación* y son ampliamente utilizadas para la valoración de exotoxinas bacterianas y sus correspondientes antitoxinas.

Precipitación en medio sólido

En lugar de efectuar la RP en medio líquido, los Ag y los Ac pueden incorporarse a un medio gelificado donde di-

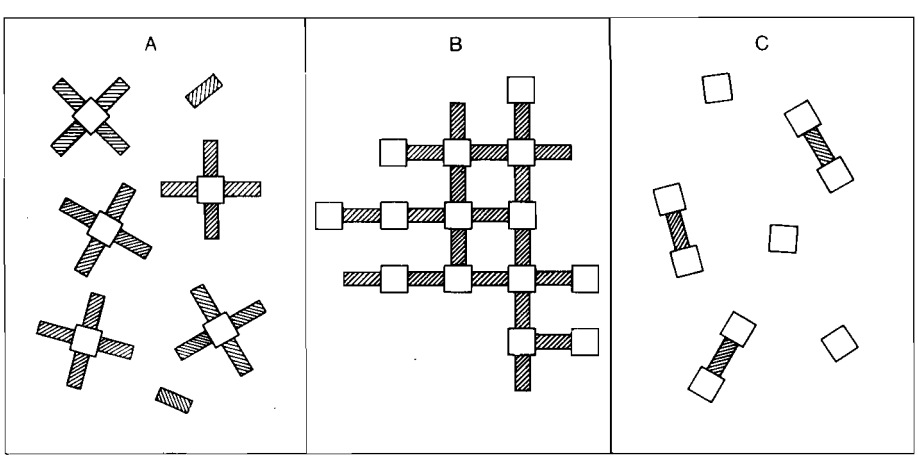


Fig. 22-2. Precipitado en exceso de Ac (A), equivalencia (B) o exceso de Ac (C).

fundirán. En el lugar en que se encuentren en sus proporciones respectivas óptimas, aparecerá una línea de precipitación blanquecina, análoga a la que describíamos en la prueba del anillo. La gelificación del medio se consigue habitualmente por adición de agar purificado, pero puede hacerse también con otras sustancias.

La precipitación en gel, o *inmunodifusión*, fue introducida por Oudin en 1946, con su método de difusión simple en tubo. Posteriormente se han propuesto diversas modalidades técnicas, que han alcanzado un extraordinario uso en diversos campos. Describiremos únicamente las más importantes.

La inmunodifusión tiene unas características generales similares a la RP en medio líquido. Se utiliza fundamentalmente para el estudio de Ag, disponiendo de antisueros adecuados, y resulta muy útil para el estudio de Ag complejos, porque cada sistema Ag-Ac da una línea de precipitación independiente. Es básicamente una reacción cualitativa, aunque determinadas técnicas permiten una valoración semicuantitativa.

Inmunodifusión simple en tubo (método de Oudin)

El antisuero se incorpora al agar fundido a 45 °C. Se introduce en tubos de pequeño diámetro donde solidifica. Se deposita encima una solución adecuada del Ag, el cual difunde a través del agar y va a encontrar el Ac. En la zona donde Ag y Ac se encuentren aproximadamente en sus proporciones óptimas, aparecerá la línea de precipitación. El tiempo de incubación, en esta técnica de inmunodifusión como en las otras, es mucho más prolongado que en la RP en medio líquido (desde varias horas a varios días).

En todas las técnicas de inmunodifusión, si el Ag es mixto o contiene determinantes antigénicos de especificidades diferentes, su enfrentamiento con un antisuero global dará tantas líneas de precipitación como Ag existan, puesto que cada uno se comporta de modo independiente. El número de líneas de precipitación, que se aprecian en inmunodifusión, representan la cifra mínima de determinantes de especificidad diferente presentes en el Ag; es evidente que pueden existir más frente a los cuales el antisuero no contenga suficientes Ac para la formación de la línea de precipitación (fig. 22-3).

Las líneas de precipitación se modifican en el curso de la incubación si las concentraciones respectivas en el punto de partida se encuentran en la zona de exceso de Ac (alejándose de la interfase) o de exceso de Ag (acercándose). Esta movilidad se produce por formación de nuevos precipitados en un lado de la línea y redisolución de los existentes en el otro. Cuando la línea está formada en el punto exacto de equivalencia, es inmóvil.

Inmunodifusión simple en placa o radial (método de Mancini)

El antisuero se incorpora también en este método a agar fundido, que se deposita sobre placas de Petri o láminas de vidrio. Una vez solidificado, se realizan sobre el agar pocillos, en los cuales se introduce la solución del Ag, que difunde radialmente a través del agar. Donde Ag y Ac se encuentran en adecuada proporción, se produce una línea de precipitación circular, un verdadero anillo. Tras un período de incubación definido, el diámetro del círculo de precipitación es proporcional a la cantidad de Ag presente en el pocillo. Por ello, realizando en la misma placa y frente al mismo suero unas pruebas paralelas con diversas concentraciones de un Ag conocido y comparando los diámetros respectivos, puede obtenerse una estimación cuantitativa de la concentración del Ag problema (fig. 22-4). Por esta técnica se dosifican las diferentes Ig en el suero.

Inmunodifusión doble en placa (método de Ouchterlony)

En las dos técnicas precedentes, la difusión se realiza en una sola dirección; el Ag difunde hacia el Ac. En el método de Ouchterlony, ambos reactivos difunden el uno hacia el otro. En placa de Petri o lámina de vidrio se deposita una capa de agar virgen y se realizan en ella dos pocillos ade-

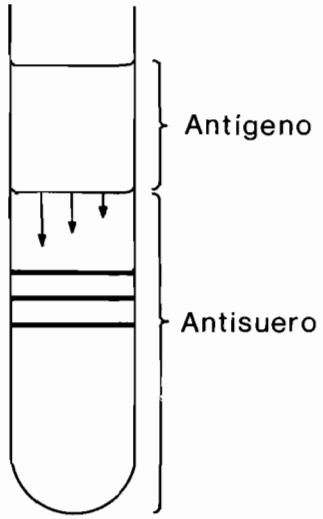


Fig. 22-3. Inmunodifusión en tubo.

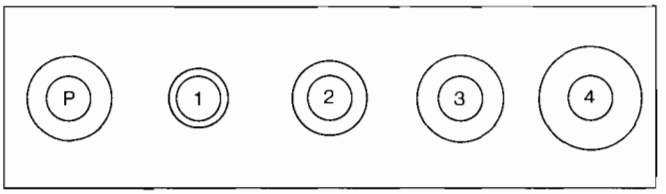


Fig. 22-4. Inmunodifusión radial.

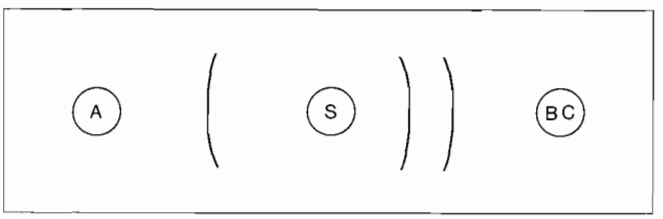


Fig. 22-5. Inmunodifusión doble.

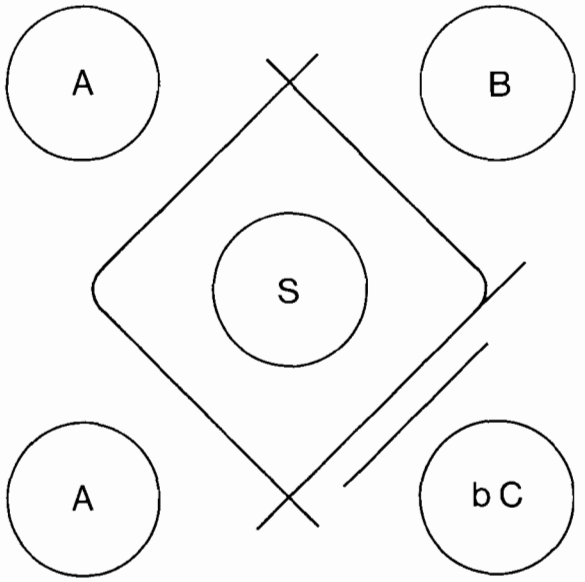


Fig. 22-6. Estudio del parentesco entre Ag en inmunodifusión doble.

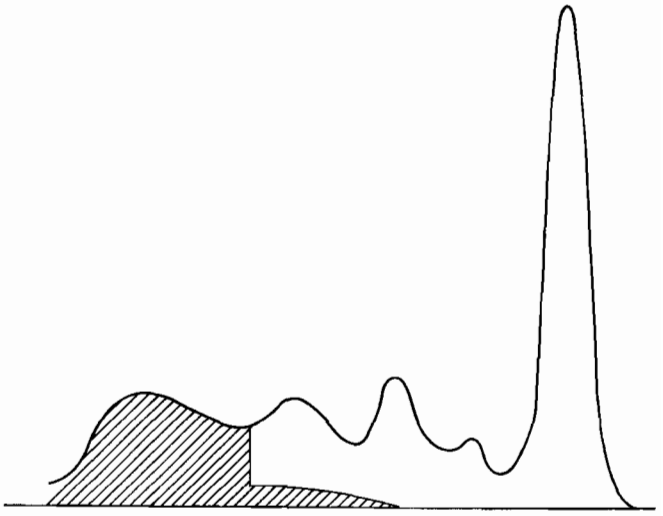


Fig. 22-7. Electroforesis del suero. En la zona rayada se encuentran las Ig.

cuadamente separados entre sí. En uno de ellos se coloca la solución del Ag y en el otro el antisuero. La difusión de ambos produce una línea de precipitación (o varias) en el seno del agar.

Distribuyendo adecuadamente los pocillos pueden estudiarse diversos Ag frente a un mismo antisuero (fig. 22-5) y establecer el parentesco entre aquéllos (fig. 22-6).

Inmunoelectroforesis (método de Grabar y Williams)

Estos autores idearon en 1957 una técnica en la que se asocian la electroforesis y la precipitación en gel.

En un primer tiempo, el Ag complejo que hay que estudiar (por ejemplo, suero humano), se somete a electroforesis en un campo eléctrico incorporado a un medio gelificado. Por su diversa movilidad se separan los componentes antigénicos (fig. 22-7).

En un segundo tiempo se coloca paralelamente a la línea de migración un antisuero total frente al Ag que se estudia (suero antisuero humano en este caso). El antisuero difunde a través del gel hasta encontrar el Ag y dibuja tantas líneas o arcos de precipitación como Ag distintos contenga la mezcla. Por esta técnica se han estudiado las proteínas séricas (fig. 22-8) y se identifican las Ig (fig. 22-9); su uso es amplísimo en inmunología.

La asociación de la electroforesis y la precipitación en gel se ha mostrado extraordinariamente útil, y se han ideado gran número de modificaciones a la inmunoelectroforesis original, alguna de las cuales ofrece mejoras sustanciales en el estudio cualitativo o aun cuantitativo de determinados sistemas Ag-Ac. En estas variantes, el encuentro entre el Ag y el Ac, en lugar de ocurrir por su difusión espontánea, se favorece y acelera al movilizar el Ag en un campo eléctrico, con lo que aumenta la sensibilidad y precocidad de la reacción.

Inmunoelectroforesis «en cohete». Es una variante de la inmunodifusión radial y, como aquélla, ofrece resultados cuantificables. Un medio gelificado que contenga el Ac se introduce en un campo eléctrico; perpendicularmente al

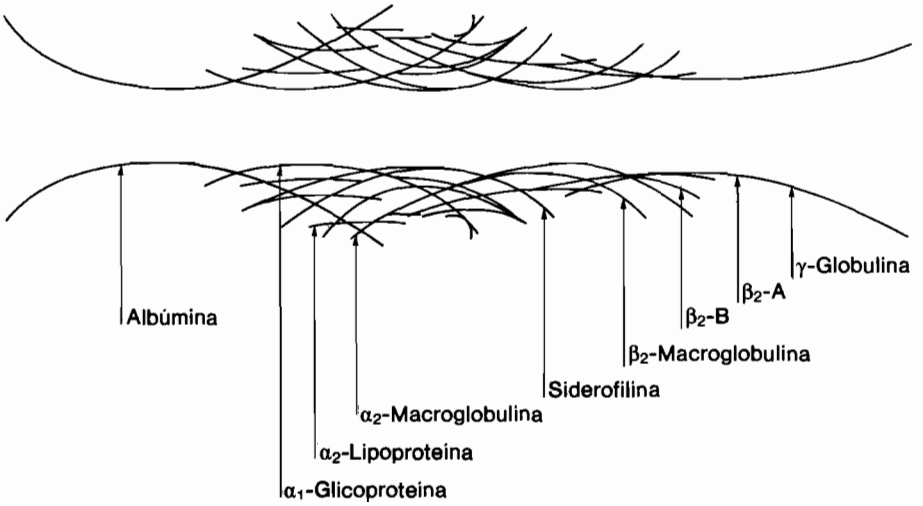


Fig. 22-8. Inmunoelectroforesis del suero.

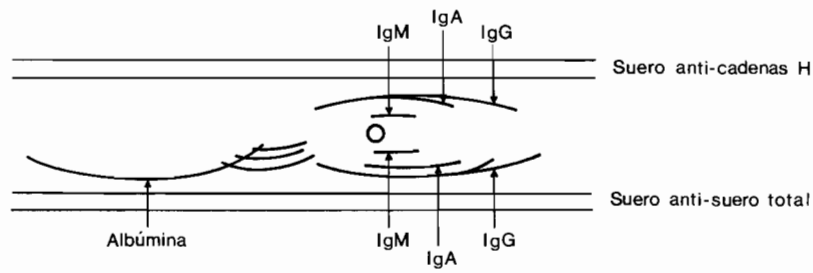


Fig. 22-9. IgG, IgA e IgM en inmunoelectroforesis.

sentido de la corriente se disponen pocillos que contengan concentraciones crecientes del Ag. La difusión electroforética del Ag a través del gel que contiene el Ac permite la aparición de líneas de precipitación en forma de conos o «cohetes». La distancia entre el pocillo y la punta del cono de precipitación está relacionada con la cantidad de Ag (fig. 22-10). Es un método rápido con el que pueden cuantificarse Ag proteicos que migran al polo positivo, como la albúmina.

Contrainmunoelectroforesis o electrosinéresis. El antisuero y el antígeno se colocan en pocillos próximos, como en una inmunodifusión doble; a continuación se aplica una corriente eléctrica perpendicular. Los Ac migrarán hacia el Ag por endosmosis, mientras los Ag que migren hacia el polo positivo encontrarán los Ac y formarán una línea de precipitación muy rápida (fig. 22-11). Este método es muy utilizado para la detección de Ac y Ag microbianos en suero y LCR (hepatitis B, infecciones meningocócicas, hidatidosis).

Inmunoelectroforesis bidimensional o cruzada. Se realiza en dos fases. En un primer tiempo, los antígenos incluidos en un gel se separan con una electroforesis convencional. A continuación, el gel se adosa a otro gel que contenga el Ac y se aplica de nuevo una corriente eléctrica en sentido perpendicular a la anterior. Aparece una línea de precipitación en forma de picos por cada sistema Ag-Ac, cuya área es proporcional a la concentración del Ag, por lo que permite una estimación cuantitativa (fig. 22-12). Es una técnica de realización delicada, que se utiliza, por ejemplo, para estudiar la conversión de factores del complemento.

REACCION DE AGLUTINACION

Denominamos *aglutinación* (A) al fenómeno que se observa cuando se mezclan antígenos particulados en suspensión con un suero que contenga anticuerpos frente a los determinantes superficiales. Los antígenos más frecuentes implicados en la reacción son bacterias y hematíes (hemaglutinación). El resultado de la unión Ag-Ac es la formación de agregados que aumentan de tamaño y tienden a sedimentar en el fondo del tubo.

La reacción es esencialmente similar a la reacción de precipitación, pero presenta las siguientes características:

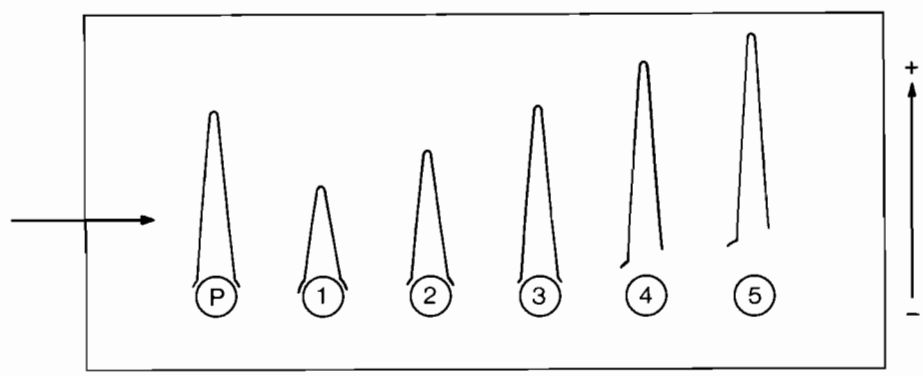


Fig. 22-10. Inmunoelectroforesis «en cohete».

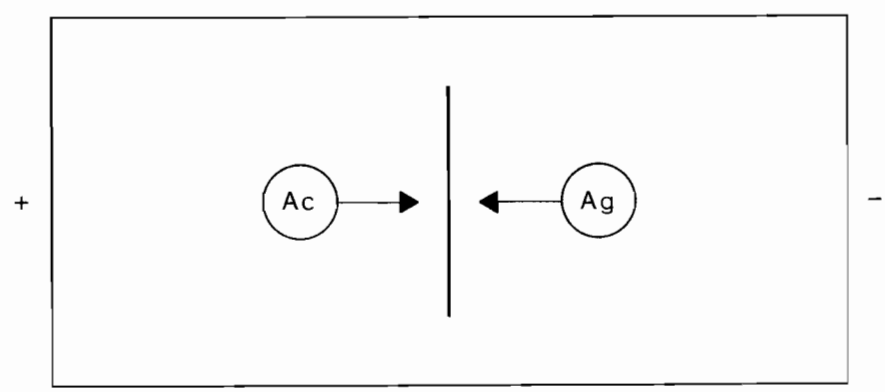


Fig. 22-11. Contrainmunoelectroforesis.

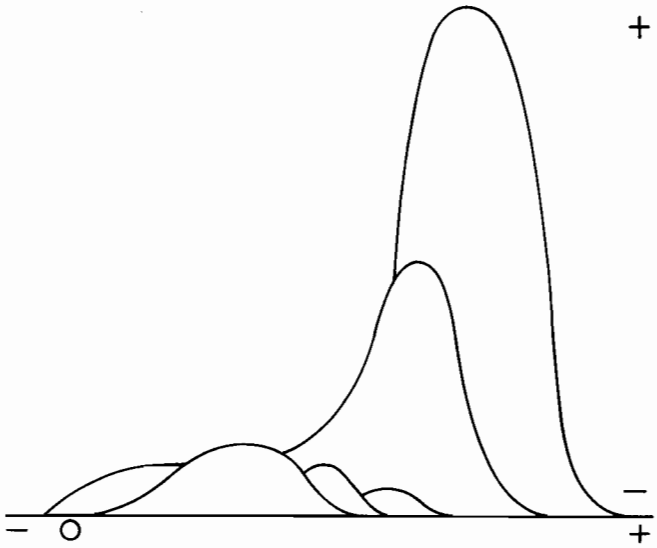


Fig. 22-12. Inmunoelectroforesis bidimensional.

1. Es una reacción bastante sensible capaz de detectar pequeñas cantidades de Ag y Ac, pero es menos específica que la RP.

2. Los inmunosueros obtenidos frente a Ag complejos, como son las bacterias o células, contienen una mezcla de Ac heterogéneos dirigidos contra los determinantes superficiales. La reacción es, por consiguiente, el resultado de una serie de diversos sistemas Ag-Ac.

3. Los Ag particulados se mantienen en suspensión en medio acuoso por la fuerza de repulsión ejercida por cargas electrostáticas negativas presentes en la superficie. Los Ac, al establecer puentes de unión entre las células, vencen esta repulsión, porque aportan cargas electropositivas. Los Ac IgM son los más eficaces en la aglutinación por su mayor volumen y carga electropositiva. En algunos sistemas, pese a existir Ac frente a los Ag superficiales, la aglutinación no se produce; dichos Ac, generalmente IgG, se denominan *no aglutinantes* o bloqueantes y se ponen de manifiesto por diversos artificios técnicos.

La RA, en sus diferentes modalidades, se usa ampliamente en el diagnóstico serológico de las enfermedades infecciosas y en inmunología clínica. No se presta, en cambio, a estudios cuantitativos exactos, dadas la complejidad de los Ag y la heterogeneidad de los Ac implicados.

La RA necesita la presencia de electrólitos en el medio, ocurre en ausencia de complemento y está influida por el pH, la temperatura y las condiciones físico-químicas del medio. La agitación facilita la formación de agregados aumentando la velocidad de aglutinación.

Aglutinación directa

Puede ser cualitativa o cuantitativa. La RA *cualitativa* se realiza en portaobjetos o en tubo, enfrentando un antisuero conocido a una suspensión de Ag desconocido. Tras una breve agitación se observa la aglutinación. Es una reacción de uso común para la identificación de bacterias y la determinación de grupos sanguíneos (fig. 22-13).

La reacción *cuantitativa* permite una estimación aproximada de los Ac presentes en el suero, mediante la determinación del título de seroaglutinación. Se realiza en una batería de tubos, en los que se colocan diluciones crecientes del suero problema y una cantidad constante de la suspensión antigénica. La máxima dilución del suero que muestra todavía aglutinación expresa el título del suero (fig. 22-14). Esta técnica se usa habitualmente para el diagnóstico serológico de las infecciones por *Salmonella* (fiebres tifoideas y paratifoideas), en cuyo caso se pueden diferenciar los Ac anti-O y anti-H de diferente significación diagnóstica, y por *Brucella*.

En este último caso se presenta con frecuencia un fenómeno conocido con el nombre de *prozona*, que consiste en que no aparece aglutinación en los tubos que contienen las concentraciones mayores de suero y sí en los siguientes. Se debe a inhibición de la reacción en exceso de Ac, favorecida por la presencia de Ac no aglutinantes.

Aglutinación cruzada

Como hemos indicado, un suero aglutinante de una bacteria contiene una mezcla de Ac frente a los diversos Ag superficiales del mosaico bacteriano. Por ello puede aglutinar, aunque generalmente a título inferior, otras bacterias relacionadas que posean Ag comunes *(aglutinación cruzada)*. Si el suero se incuba con una suspensión espesa de una bacteria relacionada y posteriormente se centrifuga la mezcla, los Ac comunes quedarán en el sedimento, adheridos a las bacterias, y en el sobrenadante sólo quedarán Ac específicos de la bacteria que se utilizó para la obtención del suero. Esta técnica, denominada de *absorción de aglutininas*, se utiliza para la obtención de sueros tipo específicos, que sólo contienen Ac, por ejemplo, frente a un determinado Ag O (fig. 22-15).

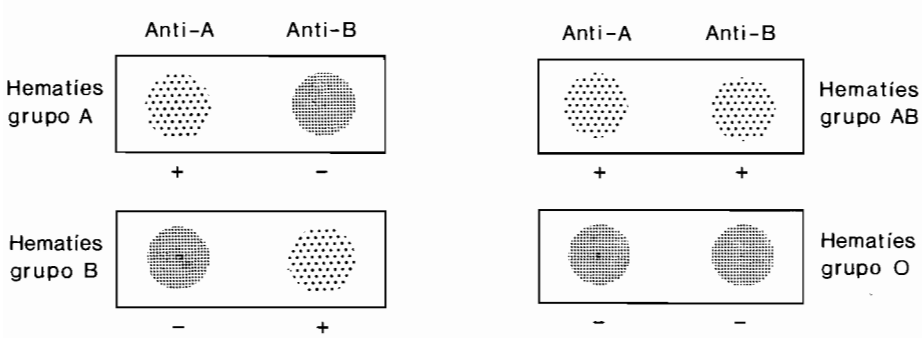


Fig. 22-13. Aglutinación cualitativa en porta. Determinación de grupos ABO de los hematíes.

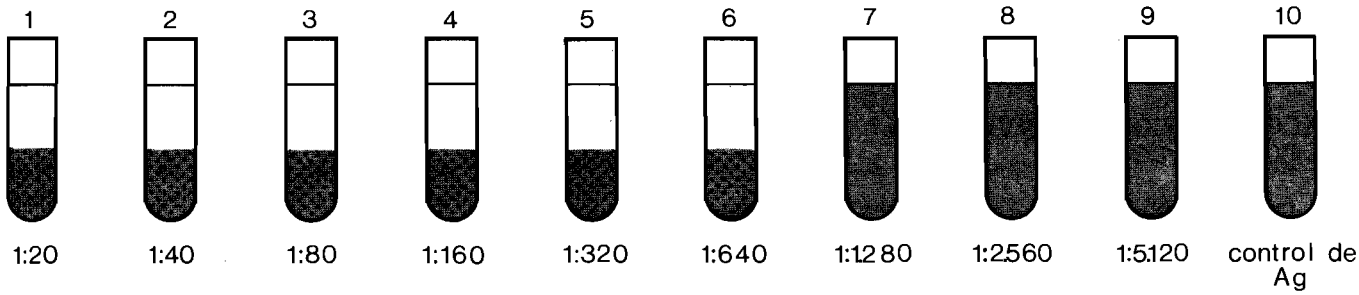


Fig. 22-14. Aglutinación cuantitativa en tubo. Título de aglutinación (1:640).

Anticuerpos no aglutinantes

En determinados sistemas, los Ac presentes, de tipo IgG, no son aglutinantes, pero la aglutinación se produce al modificarse las condiciones físico-químicas del medio o de los Ag. La realización de la reacción en un medio albuminoso aumenta la constante dieléctrica del medio y permite en ocasiones la aglutinación de hematíes por Ac, que no los aglutinan en solución salina. Otra técnica consiste en tratar los hematíes por enzimas proteolíticas, lo que disminuye las cargas negativas en la superficie antigénica y permite su aglutinación.

Pruebas de Coombs

Los Ac no aglutinantes se unen, sin embargo, al grupo determinante del Ag y pueden ser detectados por las reacciones de Coombs. Este autor describió estas reacciones en el estudio de los anticuerpos anti-Rh, pero su utilidad es mucho más amplia y puede aplicarse al estudio de múltiples Ac.

Prueba de Coombs directa. Sirve para detectar Ac espontáneamente unidos a células. Los hematíes en el recién nacido con enfermedad hemolítica por incompatibilidad Rh están sensibilizados por Ac no aglutinantes; la adición de un suero antiglobulina humana permite el establecimiento de puentes entre los hematíes a través del Ac anti-Ig y hace posible la aglutinación.

Prueba de Coombs indirecta. Detecta anticuerpos libres en el suero. Se realiza en dos fases. En la primera se incuban el Ag y los Ac no aglutinantes, que se fijarán a la célula. En la segunda, previa centrifugación de los tubos de reacción y lavado del sedimento, éste se resuspende y se añade suero anti-Ig, que se unirá a los Ac fijados y provocará la aglutinación de las bacterias o hematíes. La prueba de Coombs indirecta es muy útil en el diagnóstico serológico de la brucelosis.

Aglutinación pasiva

La RA puede servir para el estudio de Ag solubles y de sus correspondientes Ac, mediante la modalidad de *aglutinación pasiva*, indirecta o condicionada. Esta reacción se basa en que los Ag solubles pueden fijarse por diversos procedimientos sobre partículas inertes, tales como hematíes, colesterol, bentonita, látex de poliestireno, etc. Estas partículas carecen de carácter antigénico o, si lo poseen (hematíes), éste no desempeña ningún papel en la reacción. Cuando se utilizan hematíes, la reacción se denomina *hemaglutinación pasiva*.

La aglutinación pasiva tiene las mismas características generales que la aglutinación directa, pero su sensibilidad es muy superior. Es, sin embargo, una técnica mucho más delicada.

Los hematíes fijan directamente en su superficie los Ag de naturaleza poliósida y los de naturaleza proteica tras tratamiento con ácido tánico, por diazotación y por otros métodos.

Las reacciones de Coombs que hemos descrito son, en esencia, aglutinaciones pasivas en las que el Ag fue fijado por un método inmunológico.

Las reacciones de aglutinación pasiva se usan extensamente en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Por ejemplo, mediante microaglutinación en porta con partículas de colesterol sensibilizadas con cardiolipina se realiza el diagnóstico de la sífilis (técnicas de VDRL y Kline). También tienen utilidad en el estudio de otras enfermedades, como la poliartritis crónica (determinación del factor reumatoide o Ac antiglobulina, utilizando partículas de látex sensibilizadas con Ig) o el lupus eritematoso diseminado (determinación de Ac antinucleares con látex sensibilizado con ADN-proteínas).

La *coaglutinación*, otra modalidad de aglutinación pasiva, se basa en la propiedad de la proteína A, presente en cepas de *S. aureus*, de unir a las IgG por el fragmento Fc. Si se fijan IgG específicas, la proteína A en un soporte adecuado (el propio estafilococo, partículas inertes) se puede utilizar, en técnicas de aglutinación en porta, para el tipado de es-

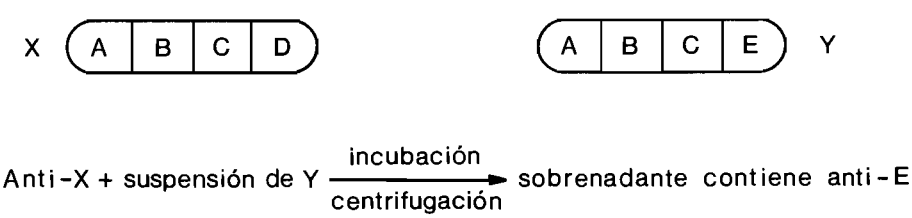


Fig. 22-15. Absorción de aglutininas.

treptococos o la identificación de gonococos, neumococos y otras bacterias.

REACCIONES CON INTERVENCION DEL COMPLEMENTO

La formación del complejo Ag-Ac comporta en muchos casos la fijación del complemento. Esta fijación no es visible, pero puede revelarse al manifestarse alguna de las funciones biológicas del complemento (reacciones de bacteriólisis, hemólisis, inmovilización de treponemas, citotoxicidad, inmunoadherencia, opsonización). En estas ocasiones, la unión del C al inmunocomplejo puede ponerse de manifiesto por diversos artificios técnicos.

Los Ac que, tras su unión con el Ag, fijan el C pertenecen a las IgM y a las IgG. Las diversas subclases de IgG difieren en su capacidad de fijación: las IgG_1 e IgG_3 fijan bien el C, las IgG_2 lo hacen escasamente y las IgG_4 no lo fijan. Las funciones biológicas del C se manifiestan más claramente cuando los Ac son IgM, porque basta una sola molécula para iniciar la secuencia de activación del sistema, mientras que se precisan dos moléculas de IgG próximas para que esto ocurra. La fijación del C requiere la presencia de iones Ca^{++} y Mg^{++}, necesarios para la activación.

La *bacteriólisis* ocurre tanto *in vitro* como *in vivo* al enfrentarse bacilos gramnegativos con Ac en presencia de complemento (fenómeno de Pfeiffer). La *hemólisis*, descrita por Bordet en 1898, es un fenómeno similar en el que intervienen como Ag los hematíes; es un proceso visible a simple vista, puesto que una suspensión de hematíes es opaca y, al sufrir la hemólisis, se hace transparente. La hemólisis inmune sirve de sistema detector en la *reacción de fijación del complemento* (RFC), descrita por Bordet y Gengou, en 1901.

Reacción de fijación del complemento (RFC)

La RFC se basa en que los complejos Ag-Ac, al fijar el C, impiden la hemólisis que ese mismo C produciría sobre un sistema hematíes-Ac hemolíticos.

La reacción se realiza en dos tiempos. En el primero se ponen en contacto el Ag y el Ac, de los cuales uno es conocido y el otro desconocido, en presencia de C. En el segundo tiempo se investiga la presencia de C libre por la adición de hematíes de carnero y hemolisina anticarnero. Este sistema detector se denomina hematíes sensibilizados o sistema hemolítico incompleto.

La interpretación de la reacción es la siguiente (tabla 22-2):

Si en la primera fase existía correspondencia entre el Ag conocido y el Ac problema (o viceversa), se habrá formado el inmunocomplejo que, a su vez, habrá fijado el C presente. Al no existir C libre para intervenir en la segunda fase, la lectura mostrará la no existencia de hemólisis. La RFC positiva se manifiesta, pues, por hemólisis negativa.

Si, por el contrario, en la primera fase no existían Ac frente a Ag (o viceversa), no se forman inmunocomplejos y el C sigue libre. Dicho C está disponible en la segunda fase para unirse a los hematíes sensibilizados y provocar la lisis. La RFC negativa se manifiesta, pues, por hemólisis positiva.

El C presente en el suero problema se destruye por calentamiento a 56 °C durante 30 minutos. El suero así «inactivado» o «decomplementado» conserva inalterado su contenido en Ac. Como fuente de C se utiliza suero fresco de cobayo, cuya actividad lítica se valora en presencia de hematíes y hemolisina.

Tabla 22-2. Interpretación de la reacción de fijación del complemento

Primera fase	Lectura tras la segunda fase	Interpretación de la reacción
Investigación de Ac Ag + suero problema + C = No fijación	Hemólisis	Negativa
Ag + suero problema + C = Fijación	No hemólisis	Positiva
Investigación de Ag Producto problema + Ac + C = No fijación	Hemólisis	Negativa
Producto problema + Ac + C = Fijación	No hemólisis	Positiva

Existen diversas modalidades técnicas de la RFC, la más utilizada de las cuales es la técnica de Kolmer, que se caracteriza por la titulación del C en presencia del Ag (lo que tiene en cuenta el posible poder anticomplementario de éste) y por la incubación de la primera fase durante 16 horas a +4 °C (larga incubación que favorece la formación de los inmunocomplejos).

La RFC es extraordinariamente útil en microbiología e inmunología por su gran sensibilidad y especificidad. Es una reacción prácticamente universal, que puede emplearse tanto con Ag particulados como solubles. Entre sus múltiples aplicaciones merece especial mención el uso que ha tenido en el diagnóstico de la sífilis (reacción de Wassermann). En la actualidad se utiliza sobre todo en el diagnóstico de las infecciones víricas.

Otras reacciones con intervención del complemento

Las reacciones de *inmovilización de los treponemas* y de *citotoxicidad* son en esencia variantes de la bacteriólisis y citólisis inmunes. La primera de estas reacciones consiste en que, si se enfrentan, bajo observación microscópica, treponemas de una cepa patógena de *T. pallidum* con Ac en presencia de C, los treponemas pierden su movilidad; la prueba, también denominada de Nelson, es la más específica de todas las reacciones para el diagnóstico de la sífilis.

Las *reacciones de citotoxicidad* se basan en que las células vivas, en presencia de Ac contra sus Ag superficiales y de C, ven perturbado su metabolismo y mueren. Aunque no se produce la lisis celular, el fenómeno puede ser demostrado al microscopio por la utilización de colorantes, como la nigrosina o el azul tripan, que colorean únicamente las células lesionadas y no las indemnes. La reacción de citotoxicidad se usa especialmente en el estudio de los Ag de histocompatibilidad presentes en los linfocitos.

La inmunoadherencia es un fenómeno que se produce *in vivo* y que facilita la fagocitosis. También puede ponerse de manifiesto *in vitro*, puesto que los microorganismos en presencia de Ac homólogos fijan el C, lo que les otorga la propiedad de adherirse a hematíes y plaquetas, fenómeno visi-

ble en que se basa la *reacción de inmunoadherencia*. Por otra parte, la fagocitosis está favorecida tanto *in vivo* como *in vitro* por la presencia de Ac y la fijación del C. La *reacción de opsonización* consiste en la determinación del índice fagocitario de macrófagos de exudado peritoneal de cobayo frente a una bacteria dada y la investigación de su aumento tras la adición de Ac y C.

REACCIONES DE INMUNOFLUORESCENCIA

En 1941, Coons, utilizando Ac marcados con fluoresceína, consiguió la detección de Ag en los tejidos e inició una nueva técnica, denominada *inmunofluorescencia*, que ha adquirido en los últimos años una enorme importancia.

Se denominan fluorocromos unas sustancias que, sometidas a una fuente luminosa, absorben luz de una determinada longitud de onda y emiten una radiación luminosa de onda mayor. Los más utilizados son el isotiocianato de fluoresceína y la rodamina. Tras absorción de radiaciones ultravioleta, el primero emite una fluorescencia verdosa y el segundo, anaranjada.

La observación se realiza en un microscopio de fluorescencia equipado con:

1. Una lámpara de vapor de mercurio fuente de los rayos UV.
2. Un filtro excitador, situado antes del objeto, que permite pasar los UV y detiene los rayos visibles.
3. Un filtro de detención, entre el ocular y el objetivo, que detiene los rayos UV y permite el paso de la luz fluorescente emitida.

Para marcar los Ac se purifican las Ig del inmunosuero por precipitación y se conjugan en frío con el fluorocromo, eliminando el sobrenadante por diálisis.

La reacción de inmunofluorescencia se puede realizar en diversas modalidades, cuyo principio se esquematiza en la figura 22-16. Todas ellas son bastante sensibles, pero la fluorescencia que se observa puede ser no específica, lo que obliga a ser muy prudente en la interpretación y a preparar los adecuados controles de los reactivos empleados.

Inmunofluorescencia directa

Se utiliza para la detección de Ag en los microorganismos o en los tejidos con ayuda de un Ac marcado. Las bacterias o los tejidos (Ag) se extienden en un portaobjetos, depositando encima el Ac marcado. Tras lavar la preparación para eliminar los Ac no fijados, se observa al microscopio de fluorescencia. Los Ac fluorescentes fijados sobre el Ag lo hacen visible.

La técnica directa se usa en el diagnóstico de bacterias patógenas en heces, de virus rábico en cortes histológicos de cerebro, de virus en secreciones respiratorias, etc. Para aumentar la sensibilidad, los microorganismos pueden cultivarse previamente y hacer actuar los Ac marcados sobre las microcolonias (bacterias) o células infectadas (virus). La inmunofluorescencia directa está limitada en su aplicación por la necesidad de disponer de un Ac específico marcado; es decir, se precisan tantos Ac marcados como Ag se quieran detectar.

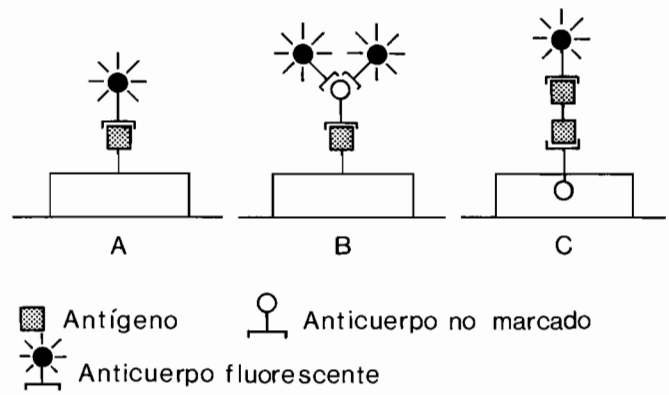


Fig. 22-16. Reacción de inmunofluorescencia. A) Reacción directa (Ac específico fluorescente). B) Reacción indirecta (anti-Ig fluorescente). C) Reacción en «sandwich» (Ac específico fluorescente).

Inmunofluorescencia indirecta

Se utiliza para la identificación y titulación de Ac en suero. Los Ag conocidos (microorganismos, células, tejidos) se extienden sobre un portaobjetos como en el caso anterior. A continuación se deposita encima el suero que contiene los Ac desconocidos. En una tercera fase, la fijación de los Ac al Ag se revela por la adición de suero antiglobulina marcado, es decir, Ac anti-Ig marcados.

La inmunofluorescencia indirecta es ampliamente utilizada para la demostración de Ac en sífilis, toxoplasmosis y otras enfermedades microbianas. Sirve igualmente para la detección de anticuerpos contra células y tejidos (Ac antinucleares, antimitocondrias, antimúsculo liso, etc.). Si se utilizan anti-IgG o anti-IgM marcados, la reacción permite conocer las clases de Ig a que pertenecen los Ac. Realizando varias pruebas con diversas diluciones del suero problema pueden titularse los Ac presentes. Para la investigación de Ac en suero humano, este método sólo requiere un Ac marcado, la antiglobulina humana. Evidentemente, si se quiere investigar Ac en otras especies, se necesitarán las correspondientes antiglobulinas marcadas.

Una variante del método es la *inmunofluorescencia mediante anticomplemento marcado*. En ella, los complejos Ag-Ac que fijan el C se detectan por la adición de un suero anticomplemento fluorescente.

Inmunofluorescencia en «sandwich»

Se utiliza para detectar Ac ligados a los tejidos, en especial para estudiar el origen celular de los Ac. Los tejidos que hay que estudiar se extienden sobre un portaobjetos, y se añade una solución del Ag. En una tercera fase se depositan los Ac marcados. La reacción es posible porque los Ag son multivalentes y, a pesar de unirse a los Ac existentes en los tejidos, siempre quedan determinantes libres para la fijación del Ac marcado. Como en el caso de la inmunofluorescencia directa, se requieren tantos Ac marcados como sistemas se estudian.

RADIOINMUNOANALISIS

El marcado de los Ag o los Ac con isótopos radiactivos permite su detección, tanto en los inmunocomplejos como

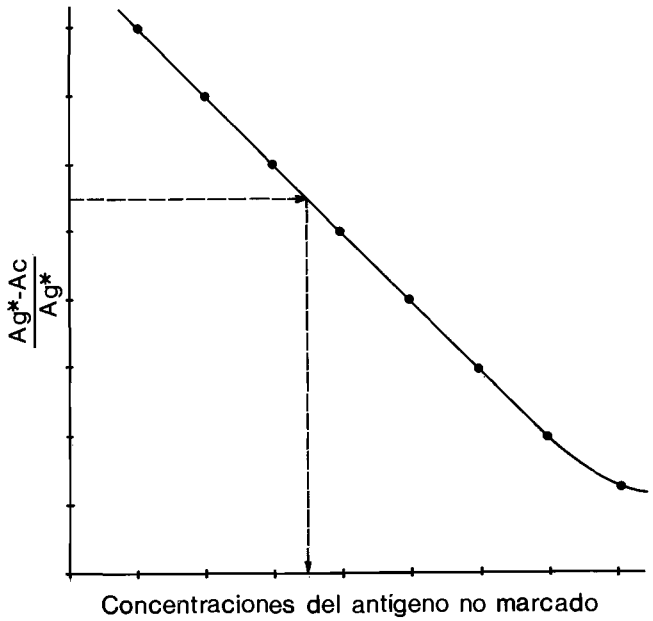


Fig. 22-17. Curva estándar de una reacción de inhibición competitiva RIA. Una vez determinada la razón Ag* marcado unido/Ag* libre, la curva permite calcular la concentración del Ag problema.

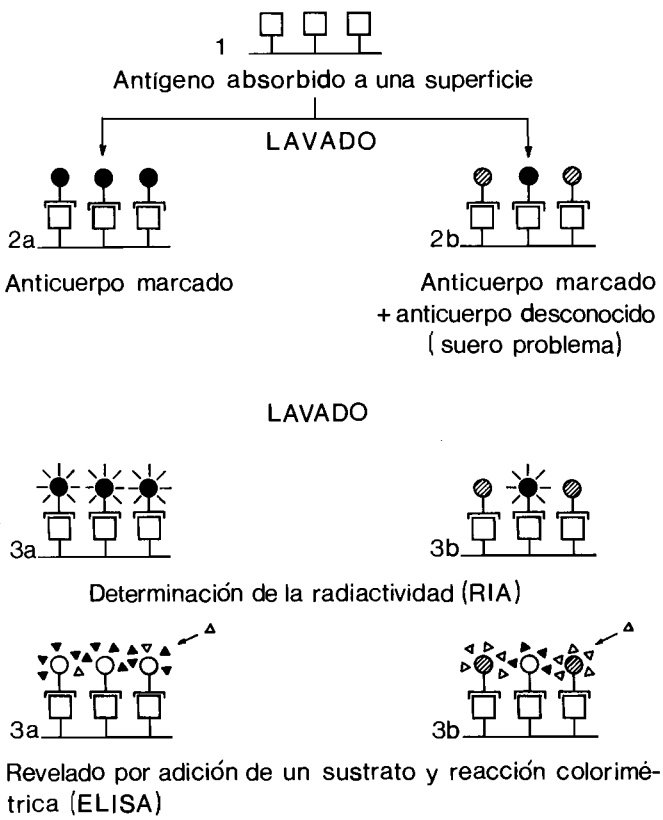


Fig. 22-18. Método de inhibición competitiva RIA o ELISA en fase sólida para detección y cuantificación de anticuerpos. La diferencia entre la radiactividad (o la hidrólisis del sustrato) en el tubo (o pocillo) que contiene el anticuerpo marcado (3a) y el que contiene el anticuerpo marcado más el suero problema (3b) es proporcional a la cantidad de anticuerpo desconocido en el suero problema.

en estado libre, en cantidades muy pequeñas, puesto que la radiactividad tiene sistemas de medida de extraordinaria sensibilidad. Los métodos de *radioinmunoanálisis* (RIA) se desarrollaron inicialmente para dosificar las hormonas circulantes, cuya concentración se expresa en ng/ml. Sin embargo, el procedimiento, que pone de manifiesto la reacción primaria Ag-Ac, es de utilidad universal y en la actualidad se ha generalizado a múltiples campos de la medicina y de la biología. Mediante técnicas de RIA se determinan hoy hormonas (ACTH, hormona del crecimiento, insulina, renina, aldosterona, etc.), múltiples fármacos (digitálicos, prostaglandinas, vitaminas, etc.), Ag microbianos y sus correspondientes Ac (hepatitis), inmunoglobulinas (IgE total y específica para un alergeno particular), etc.

El radioinmunoanálisis utiliza el principio de la inhibición competitiva de la unión en un inmunocomplejo de una molécula (Ag o Ac) marcada radiactivamente. En general se usa como isótopo marcador el I^{125}.

En dos series de tubos se incuba, por ejemplo, una hormona marcada* más su antisuero, ambos en una cantidad constante. Ocurrirá:

$$Ag^* + Ac \rightleftharpoons Ag^* - Ac + Ag^*$$

En una segunda fase se añaden a una serie de tubos cantidades crecientes y conocidas de una solución patrón de la misma hormona no marcada; en la otra serie de tubos se añade una cantidad fija de suero problema. La competición entre la hormona no marcada añadida y la marcada presente tenderá el equilibrio de la reacción:

$$Ag + Ag^* + Ac \longrightarrow Ag^* - Ac + Ag - Ac + Ag^*$$

Los inmunocomplejos formados pueden ser separados por diferentes técnicas (por ejemplo, por precipitación) y determinarse posteriormente mediante contador γ o β la radiactividad del precipitado (Ag* unido) y del sobrenadante (Ag* libre).

La razón entre radiactividad unida y radiactividad libre en los diversos tubos permite determinar una curva estándar con las concentraciones conocidas de la hormona y calcular la concentración de hormona en el suero problema (fig. 22-17). De forma similar pueden utilizarse Ac marcados para determinar la presencia de anticuerpos desconocidos.

Los métodos de RIA varían según la técnica que se emplee para separar los inmunocomplejos de los Ag (o Ac) libres (precipitación química, precipitación por suero anti-Ig, ultracentrifugación, etc.), separación que hace especialmente complejo el RIA en fase líquida.

Muy diversos antígenos se fijan espontáneamente a superficies inertes, como papel, vidrio, carbón, talco, sílice o plástico. De la misma forma, los anticuerpos pueden fijarse sobre la superficie de tubos de poliestireno y polipropileno o partículas de Sephadex. En esta propiedad se basan los métodos de RIA en fase sólida, que representan una considerable simplificación y se están generalizando. El principio es el mismo, pero la reacción Ag-Ac tiene lugar sobre una superficie y la separación del reactivo marcado libre se hace simplemente con un lavado (fig. 22-18).

Diversos métodos no basados en el principio de inhibición competitiva, se han introducido en los últimos años para múltiples finalidades diagnósticas (fig. 22-19).

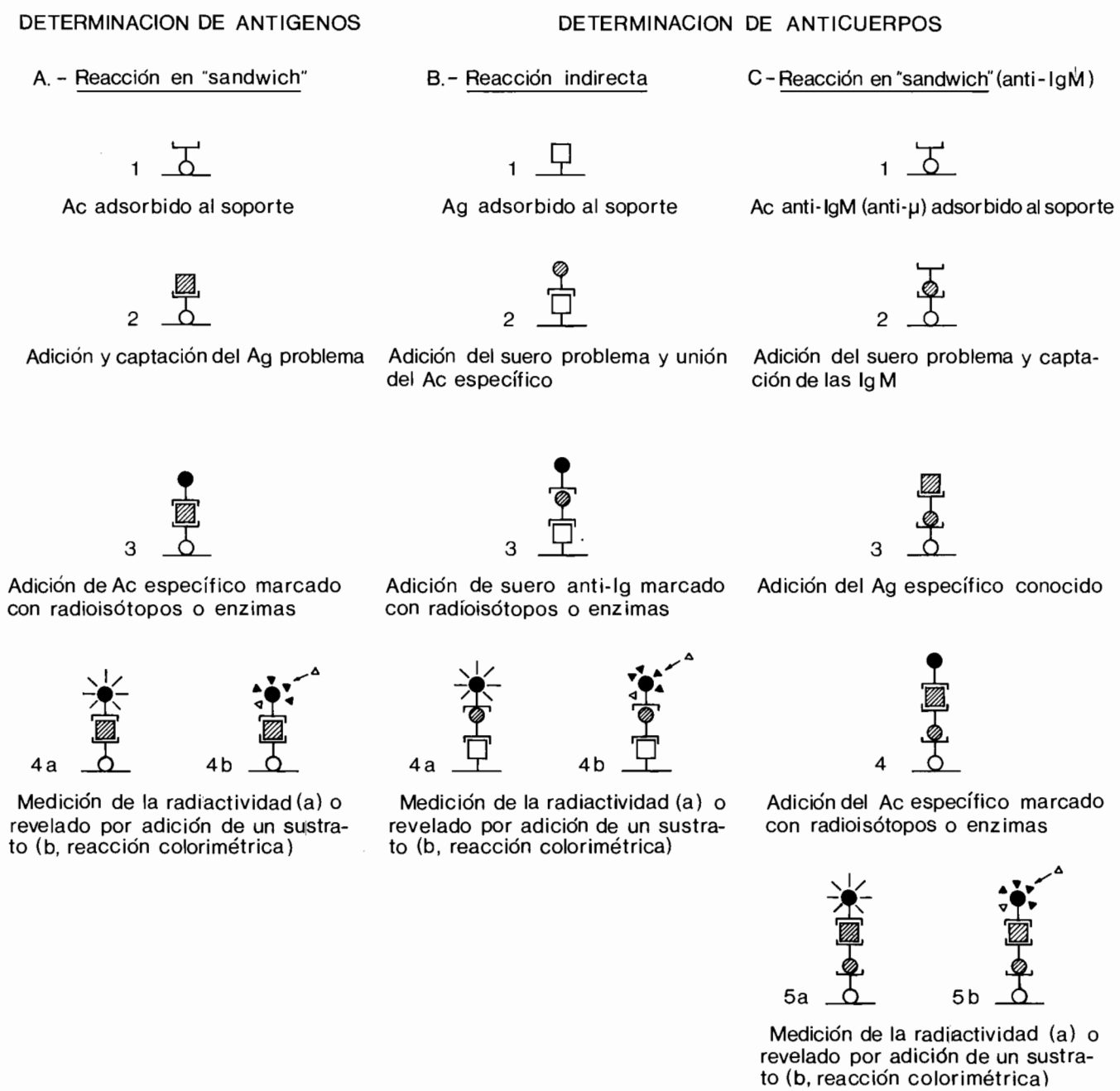


Fig. 22-19. Esquema de algunas reacciones RIA o ELISA utilizadas habitualmente en la determinación de antígenos y anticuerpos. A) Reacción en «sandwich» para determinación de Ag (virus de la hepatitis B, gonococo, α-fetoproteína, carcinoembrionario). B) Reacción indirecta para determinación de Ac (rubéola, toxoplasmosis, IgE específica). C) Reacción en «sandwich» para determinación de Ac IgM (virus de la hepatitis A).

A pesar de las ventajas señaladas, el RIA presenta el inconveniente derivado de la necesidad de utilizar isótopos. Para su empleo se requieren instalaciones protegidas con personal capacitado. Por otra parte, el equipamiento en contadores e isótopos es ciertamente caro.

ENZIMOINMUNOANALISIS

Los métodos de enzimoinmunoanálisis (EIA) se basan en la detección de los complejos Ag-Ac mediante el empleo de enzimas unidas al antígeno o al anticuerpo. La enzima utilizada más frecuentemente es la peroxidasa, aunque pueden emplearse otras (fosfatasa alcalina, β-galactosidasa). La presencia de la enzima en un inmunocomplejo es detectada por una reacción coloreada, que se produce al añadir un sustrato. La lectura de la reacción puede realizarse a simple vista o, en modalidades técnicas más precisas, por espectrofotometría.

Desde el punto de vista conceptual, los métodos de EIA son asimilables a la inmunofluorescencia, pero su sensibilidad es mucho mayor y semejante al RIA, al que está reem-

plazando en muchos aspectos. Frente al RIA precisan un equipamiento más modesto, no utilizan isótopos y pueden emplearse para detectar Ag directamente en los tejidos.

Entre las múltiples técnicas de EIA desarrolladas en los últimos años se han generalizado las de ELISA (de las iniciales anglosajonas *Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay*), basadas en el mismo principio que el RIA en fase sólida.

En la figura 22-18 se esquematiza una reacción de ELISA en tubos o placas de poliestireno, en cuya superficie se absorbe un Ag y que permite una cuantificación de los Ac en el suero problema.

Las técnicas de ELISA se utilizan para el diagnóstico tanto cualitativo como cuantitativo en modificaciones técnicas muy diversas (fig. 22-19). Su uso es amplísimo actualmente. Por ELISA se estudian las IgE totales y las IgE específicas para diversos Ag, y las infecciones por múltiples agentes microbianos y parasitarios (hepatitis A y B, rotavirus, rubéola, varicela, herpes, sarampión, hidatidosis, etc.).

REACCIONES DE TRANSFERENCIA

La expresión inglesa *blotting*, de difícil traducción al castellano, se emplea para designar la transferencia de una sustancia desde un gel, donde se hayan separado sus diversos componentes, a un soporte fácilmente manejable, como la nitrocelulosa. Se transfieren así una serie de manchas *(blotts)*.

Las sustancias que se estudian en las reacciones de *blotting* son fundamentalmente ácidos nucleicos y proteínas. Los diversos componentes presentes en un gel de poliacrilamida son separados por diversas técnicas (isoelectroenfoque, electroforesis mono o bidimensional, etc.), en ocasiones con un tratamiento previo de la sustancia (p. ej., enzimas de restricción en el caso de los ácidos nucleicos).

La transferencia desde el gel al soporte se realiza por capilaridad o por electroforesis *(electroblotting)*. El material transferido se une fácilmente a la membrana soporte, cuyo tipo se selecciona según el material de estudio. El resto de la membrana, exento de material transferido, se bloquea con albúmina o más frecuentemente con gelatina.

En las condiciones descritas, las manchas transferidas pueden ser estudiadas por hibridación con ácidos nucleicos complementarios marcados con radioisótopos o por reacciones inmunológicas.

En las reacciones de *blotting* inmunológicas, los antígenos transferidos se estudian con Ac marcados con radioisótopos (RIA) o enzimas (EIA). Pueden utilizarse reacciones directas con Ac específicos marcados o indirectas mediante antisueros anti-Ig marcados, que actúan tras una primera etapa de contacto con sueros problema. Las técnicas indirectas, que obviamente sólo precisan un tipo de Ac marcado, son las más utilizadas.

Existen diferentes modalidades técnicas para la reacción de *blotting* que reciben diferentes denominaciones, según que pretendan determinar proteínas *(Western blotting)* o ácidos nucleicos, ya sean ARN *(Northern blotting)* o ADN *(Southern blotting)*.

REACCIONES DE NEUTRALIZACION Y PROTECCION

Los Ag dotados de determinadas actividades biológicas pueden perderlas tras su unión con el Ac correspondiente. La reacción se manifestará *in vitro* por la desaparición en la mezcla Ag-Ac de la acción tóxica, acción patógena, capacidad enzimática, actividad hormonal, poder de multiplicación, etc., de que está dotado el Ag, lo que se revela por su posterior inoculación a un sistema adecuado (animal de experimentación, cultivo, sustrato de la enzima). Las reacciones que ponen de manifiesto *in vitro* este efecto se denominan genéricamente *reacciones de neutralización*. Son innumerables, como lo son las propiedades biológicas que pueden presentar los Ag. La *reacción toxina-antitoxina* es una típica reacción de este tipo; la unión de una exotoxina bacteriana (diftérica, tetánica, botulínica) con su correspondiente antitoxina neutraliza el efecto tóxico, que se demuestra por inoculación al animal de experimentación. Mediante esta reacción se valoran las preparaciones de toxina en presencia de antitoxina patrón y viceversa.

En el estudio de los virus se usan a menudo reacciones de neutralización, que comportan la desaparición de la acción citopática sobre cultivos celulares, de la actividad hemaglutinante o hemadsorbente, etc.

Los Ac protectores, responsables de la inmunidad adquirida, y sus Ag correspondientes pueden ser estudiados por pruebas *in vivo*, que constituyen las *reacciones de protección*. Estas reacciones pueden ser activas o pasivas. Con la *protección activa* se puede determinar la capacidad vacunante de una preparación antigénica, administrándola a un lote de animales de experimentación. Tras el período de tiempo necesario a la fabricación de Ac por los animales, se les somete a la inoculación del germen virulento. La protección se mide por la supervivencia de los animales. Las reacciones de *protección pasiva* se usan para medir el poder protector de un suero inmune. Para ello se administra el suero a un lote de animales y, tras un breve período de tiempo, necesario para la difusión de los Ac a todos los tejidos, se inocula el germen virulento. Aquí, igualmente, la supervivencia de los animales es el indicador de la protección habitualmente utilizado.

BIBLIOGRAFIA

Kabat, E. A. (dir.): Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry, 2.ª ed. Holt, Rinehart and Winston, New York, 1975.

Rose, W. R., y Friedman, H.: Manual of Clinical Immunology, 2.ª ed. American Society for Microbiology, Washington D. C., 1982.

Voller, A.; Bidwell, D. E., y Barlett, A.: Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Bull. WHO, 53, 55, 1976.

Wier, D. M. (dir.): Handbook of Experimental Immunology, Blackwell, Oxford, 1973.

Williams, C. A., y Chase, M. M. (dirs.): Methods in Immunology and Immunochemistry, vol. IV. Academic Press, New York, 1970.

Capítulo 23

Reacciones de hipersensibilidad

José Angel García-Rodríguez

La respuesta inmune ya se ha señalado que se caracteriza por la aparición de anticuerpos o células sensibilizadas (linfocitos T efectores), que reaccionan específicamente con los antígenos que determinaron su formación. Estas reacciones inmunitarias condicionan una protección o un daño. En el primer caso estamos ante la inmunidad en sentido estricto y en el segundo, ante el fenómeno de hipersensibilidad o reacciones de hipersensibilidad. Se trata, por tanto, de dos manifestaciones del mismo proceso: en la inmunidad, el segundo contacto con el Ag no lesiona los tejidos, en tanto que en la hipersensibilidad sí.

Si la inmunidad se ocupa de todos aquellos factores que se implican en las reacciones inmunológicas, sería más correcto hablar de inmunidad protectora e inmunidad lesiva, respectivamente. De todas formas, el daño tisular no significa necesariamente un efecto perjudicial para el huésped, ya que, a veces, reacciones protectoras van acompañadas de fenómenos lesionales, como es el caso de la inmunidad celular. El daño tisular es casi siempre perjudicial en el caso de la hipersensibilidad inmediata, pero puede no serlo en la retardada. En general es beneficioso en los casos de defensa frente a las enfermedades infecciosas y tumores, y es dañino en la dermatitis atópica, enfermedades autoinmunes y trasplantes.

En cuanto al momento de aparición, las reacciones de hipersensibilidad se clasifican en inmediatas y retardadas. Las de hipersensibilidad inmediata se caracterizan en que aparecen a las pocas horas del estímulo, tienen una base humoral y, por tanto, su desarrollo implica la reacción de un Ag con su correspondiente Ac. Las reacciones de hipersensibilidad retardada aparecen tardíamente (después de las 24 horas) y tienen una base celular; en estas reacciones intervienen los linfocitos T y las sustancias producidas por ellos.

En la actualidad se clasifican y se estudian según el esquema fisiopatogénico creado por Gell y Coombs. Estos autores reconocen cuatro tipos fundamentales en relación con el mecanismo de producción, si bien Roitt ha introducido un quinto grupo, desglosado del tipo II de Gell y Coombs. Esta clasificación modificada es la que se va a desarrollar y comprende los siguientes tipos:

1. Hipersensibilidad de tipo I o anafiláctica.
2. Hipersensibilidad tipo II, citotóxica o citolítica.
3. Hipersensibilidad tipo III o mediada por complejos.
4. Hipersensibilidad tipo IV o celular.
5. Hipersensibilidad tipo V o estimuladora.

En la tabla 23-1 se señalan las características de estos grupos.

HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO I O ANAFILACTICA

Se trata de una hipersensibilidad inmediata, caracterizada por su rápida aparición tras el contacto con el antígeno. Aparece cuando los antígenos reaccionan con sus correspondientes anticuerpos, inmunoglobulinas fijadas sobre las células cebadas o basófilas que liberan sustancias vasoactivas, responsables últimas del cuadro. Existen dos tipos, uno general (hipersensibilidad anafiláctica general), que se conoce con el nombre de anafilaxia, y otro local (hipersensibilidad anafiláctica local), denominado atopia.

Tabla 23-1. Tipos de reacciones de hipersensibilidad

Tipo I. Hipersensibilidad anafiláctica Mediada por anticuerpos, fundamentalmente IgE. La unión IgE-Ag produce la liberación de mediadores, fundamentalmente vasoactivos, por las células cebadas y basófilas. No hay activación del complemento
Tipo II. Hipersensibilidad citotóxica o citolítica Mediada por anticuerpos, IgG e IgM y antígenos celulares. La reacción Ag-Ac da lugar a la destrucción celular por fagocitosis, células asesinas *(killer)* y activación del complemento
Tipo III. Hipersensibilidad por inmunocomplejos Mediada por anticuerpos precipitantes, IgG e IgM y antígenos solubles. Los complejos Ag-Ac al precipitar lesionan los vasos y membranas basales por los efectos de la agregación plaquetaria y activación del complemento
Tipo IV. Hipersensibilidad celular o retardada Mediada por linfocitos T sensibilizados. La reacción de estas células con el antígeno provoca su destrucción por acción directa o lesiones por liberación de mediadores (linfoquinas)
Tipo V. Hipersensibilidad estimuladora Mediada por anticuerpos y antígenos celulares. Su unión provoca la activación funcional de la célula

De Gel y Coombs, modificado por Roitt.

Anafilaxia

Se caracteriza por presentarse de forma aguda y con gravedad manifiesta al tener un desarrollo generalizado. Varía según la especie animal en la que se implanta.

De entrada, se trata de un fenómeno experimental que en ocasiones puede desarrollarse en el hombre por contacto con determinados antígenos; en este caso suele existir una predisposición genética.

Para su aparición se requieren tres requisitos (fig. 23-1): Una inyección sensibilizante, administrada habitualmente por vía subcutánea. Un tiempo de latencia, durante el cual el antígeno difunde por todo el organismo estimulando los linfocitos B, para posteriormente desaparecer (período de síntesis de los anticuerpos que se fijan en las células cebadas y basófilos). Este período es de 7 a 10 días aproximadamente. Y una inyección desencadenante (habitualmente se inocula por vía intravenosa u otra vía directa), siempre con una mayor cantidad de antígeno que en la primera inyección.

La gravedad del cuadro está en relación con la vía de administración, la cantidad de Ag inyectado y la cuantía de inmunoglobulinas fijadas a las células. En esta fase se liberan las sustancias vasoactivas contenidas o producidas por las células cebadas o basófilas.

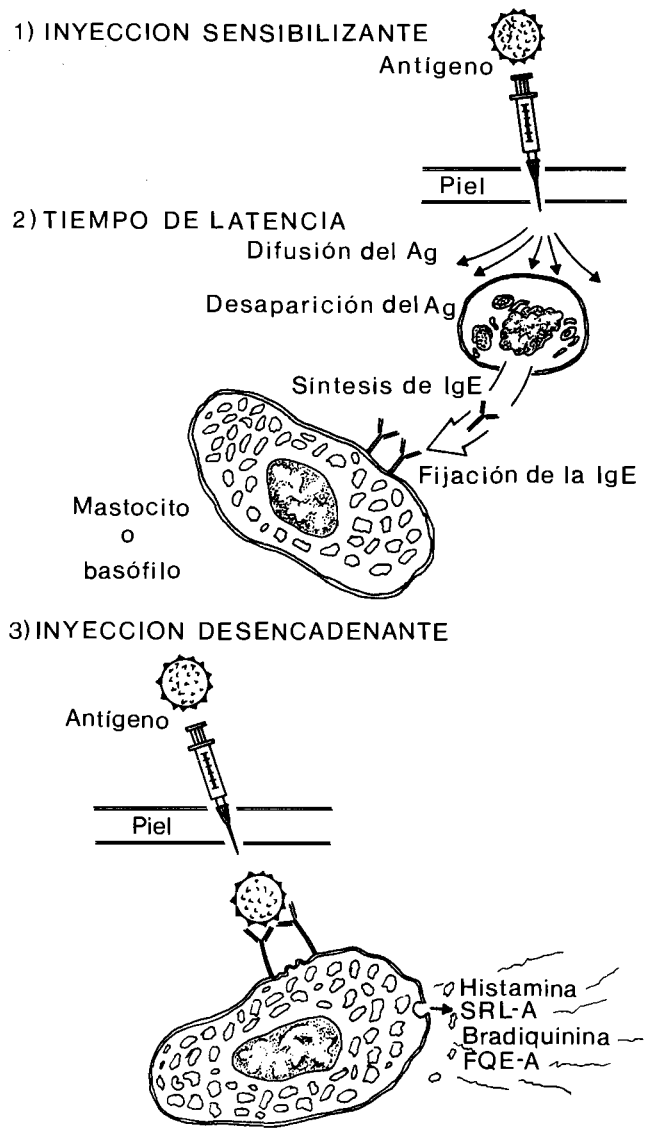


Fig. 23-1. Requisitos y mecanismos de la anafilaxia.

Antígenos. Los antígenos que dan lugar a reacciones de hipersensibilidad se denominan alergenos. En el caso de la anafilaxia humana son particularmente importantes la penicilina, los sueros heterólogos y los venenos de himenópteros.

Anticuerpos y células implicados. Los anticuerpos responsables de este cuadro en el hombre son las IgE que se conocen también con el nombre de reaginas, anticuerpos anafilácticos, sensibilizantes de la piel u homocitotrópicos. Esta última denominación se debe a su capacidad de unirse a células de la misma especie. Las IgE se unen con gran especificidad (la misma que tiene el Ag con el Ac) por su fracción cristalizable a receptores glicoproteicos de las células cebadas y basófilos. En estas células existen de 20.000 a 100.000 receptores, aunque todos ellos están ocupados.

La IgE se produce fundamentalmente por los plasmocitos de las formaciones linfoides paramucosas del tubo digestivo y de las vías respiratorias, células que son escasas en el bazo y ganglios linfáticos.

Mecanismo de liberación de mediadores (fig. 23-2). La unión de un antígeno bivalente o multivalente a dos moléculas de IgE adyacentes determina la estimulación de las células cebadas o basófilas, que producen la liberación por secreción (no citotóxica) de las sustancias preformadas acumuladas en sus gránulos o de mediadores lipídicos formados en el curso de la estimulación. Estas sustancias incluyen histamina, serotonina, SRS-A (sustancia de reacción lenta de la anafilaxia), bradiquinina, factor de transformación plaquetario, prostaglandinas y factor quimiotáctico de los eosinófilos.

El mecanismo de activación celular y de la liberación no está totalmente dilucidado, pero se conoce que la unión de dos moléculas adyacentes de IgE por un antígeno da lugar a que sus fracciones cristalizables se entrelacen, provocando una señal de membrana que inicia la activación. En ésta intervienen los iones Ca^{++} y la activación de una proesterasa a una esterasa (serina-esterasa) que modula la relación AMPc/GMPc. En el caso de esta reacción hay un descenso del AMPc y un aumento de GMPc. La concentración de AMPc también está controlada por una fosfodiesterasa que la metaboliza a 5'AMP. En una fase ulterior, dependiente de energía y de iones Ca^{++}, se acumulan en los microtúbulos e intervienen los microfilamentos, que determinan que los gránulos emigren hacia la membrana. Al final, la membrana de los gránulos se funde con la célula. Se forma un poro por el que penetra sodio que libera la histamina de su unión polianiónica con heparina y proteínas, y provoca su salida.

La liberación de mediadores está regulada por varios sistemas (figs. 23-3 y 23-4), cuyo conocimiento tiene gran importancia para comprender algunas de las medidas terapéuticas que se adoptan en las reacciones de tipo anafiláctico. Dado que el nivel de AMPc es muy importante para la regulación de la liberación, todos los sistemas que modulen su concentración influirán positiva o negativamente en la anafilaxia. En este sentido, las sustancias que activan los receptores β-adrenérgicos (adrenalina, isoproterenol) activan la adenilciclasa aumentando la concentración intracelular

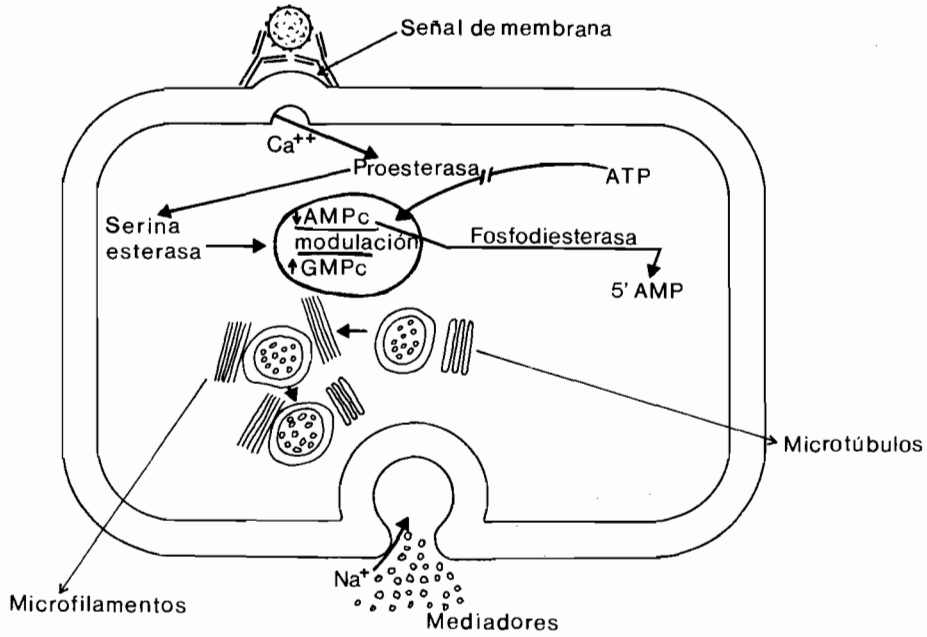


Fig. 23-2. Mecanismo de la liberación de mediadores en la anafilaxia.

de AMPc, que bloquea la liberación de mediadores en relación con su nivel.

Las prostaglandinas PGE1 y PGE2 actúan sobre sus receptores condicionando el mismo efecto, y también lo hace la histamina, que da lugar a un retrocontrol *(feed-back)* al actuar sobre los receptores H_2 de los basófilos y células cebadas.

Los bloqueantes o antagonistas β-adrenérgicos (propanolol) actúan a la inversa. Los corticoides aumentan el número de receptores β-adrenérgicos, lo que contribuye a disminuir la reacción anafiláctica. El AMPc se transforma en 5'AMP por la fosfodiesterasa disminuyendo su concentración; las metilxantinas (teofilina) inhiben esta enzima dificultando la liberación de mediadores. Los α-adrenérgicos (noradrenalina, dopamina y fenilefrina) y los colinérgicos (acetilcolina, carbaminoilcolina) estimulan la guanilatociclasa aumentando la concentración intracelular de GMPc y favoreciendo, por tanto, la liberación. En sentido contrario actúan los antagonistas α-adrenérgicos (fenoxibenzamina, dibenamina) y los anticolinérgicos (atropina). Los antihistamínicos inhiben la acción de la histamina sobre los receptores H_1.

Mediadores. De los mediadores de la anafilaxia, unos están preformados y se liberan inmediatamente tras la reacción del Ag con las IgE; se conocen como mediadores pri-

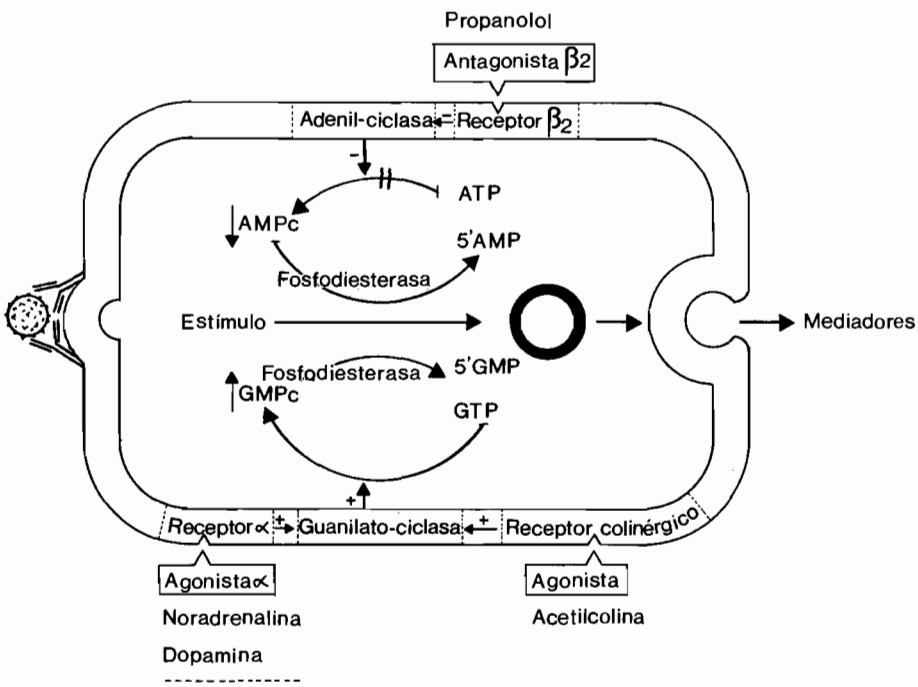


Fig. 23-3. Sistemas de regulación de frenadores de la liberación de mediadores.

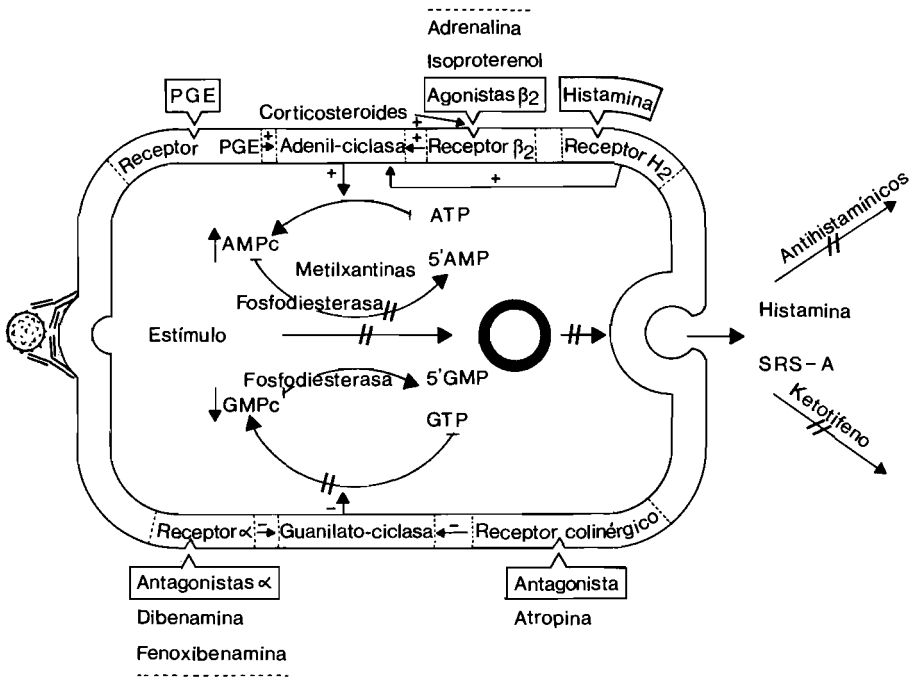


Fig. 23-4. Sistemas de regulación de activadores de la liberación de mediadores.

marios e incluyen: histamina, serotonina, factor quimiotáctico de los eosinófilos (FQE) y heparina. Otros comienzan a formarse tras el estímulo y se liberan durante la reacción de tipo anafiláctico; se conocen como mediadores secundarios y comprenden la sustancia de la reacción lenta de la anafilaxia (SRS-A), los factores activadores de las plaquetas y la bradiquinina.

La histamina es el principal mediador de la respuesta anafiláctica en el hombre. Procede de la descarboxilación de la L-histidina por acción de la histidín-descarboxilasa y actúa sobre dos tipos de receptores, H_1 y H_2. Sobre los primeros causa los efectos inflamatorios característicos de la anafilaxia. En este sentido provoca contracción de la musculatura, secreción de moco y prurito. Es destruida por la histaminasa y por una monoaminooxidasa, por metilación, acetilación y oxidación.

La serotonina ó 5-hidroxitriptamina no parece intervenir, al menos de forma importante, en la anafilaxia humana. Dos razones parecen ser responsables de este hecho: por un lado, la falta de sensibilidad a esta sustancia y, por otro, el hecho de que no exista en los basófilos y células cebadas. No obstante, en el curso de la reacción anafiláctica se puede liberar serotonina por la acción de factores activantes de las plaquetas sobre éstas. La serotonina es importante en la anafilaxia del ratón y la rata debido a que sí se halla en sus basófilos y células cebadas. Se produce por hidroxilación y descarboxilación del α-triptófano y causa contracción de la musculatura lisa y aumento de la permeabilidad vascular. Se inactiva por una monoaminooxidasa.

El factor quimiotáctico de los eosinófilos está formado por dos tetrapéptidos de bajo peso molecular. Atrae los eosinófilos al lugar de la reacción, donde liberan una serie de sustancias que intervienen en la regulación de la anafilaxia. También es quimiotáctico para los neutrófilos.

La heparina es un mucopolisacárido ácido presente en los gránulos de las células cebadas que actúa merced a sus propiedades anticoagulantes.

La sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRS-A) es un derivado del ácido araquidónico que contiene un aminoácido azufrado; se denomina actualmente leucotrieno C. Da lugar a una contracción lenta y duradera de los bronquiolos y parece ser el mediador más importante del asma bronquial. También produce un aumento de la permeabilidad capilar. No está preformada y se produce tras la activación. Se inactiva por la arilsulfatasa B producida por los eosinófilos, y su acción no es inhibida por los antihistamínicos, sino por la atropina.

Los factores activadores de las plaquetas son lípidos, y son más importantes los fosfolípidos que los lípidos neutros. Son producidos tras el estímulo por las células cebadas y basófilos, y causan una agregación plaquetaria y la liberación de serotonina.

La bradiquinina es un nonapéptido básico que procede de la globulina sérica α_2. Para producirse, los mastocitos y basófilos sintetizan y liberan en el curso de las reacciones anafilácticas precalicreína, que se transforma en calicreína, la cual inicia una activación secuencial de peptidasa y actúa sobre la citada globulina α_2. Provoca una contracción de la musculatura lisa, vasodilatación, aumento de la permeabilidad capilar e hipotensión.

En el curso de la reacción anafiláctica se liberan más mediadores, tanto primarios (factor quimiotáctico de los neutrófilos, quimasa, arilsulfatasa A) como secundarios (prostaglandinas), pero su papel es menos conocido.

Reguladores. La liberación de mediadores está regulada por varios sistemas. Uno de ellos es la inhibición de la secreción que establece la histamina al actuar sobre los receptores H_2. Otro está determinado por los eosinófilos (fig. 23-5), leucocitos que son atraídos por el FQE al lugar de la liberación, donde secretan una serie de enzimas inactivantes: la histaminasa que destruye la histamina, la lipopolidasa que inhibe los factores de transformación plaquetaria y la arilsulfatasa B, sustancia de reacción lenta de la anafi-

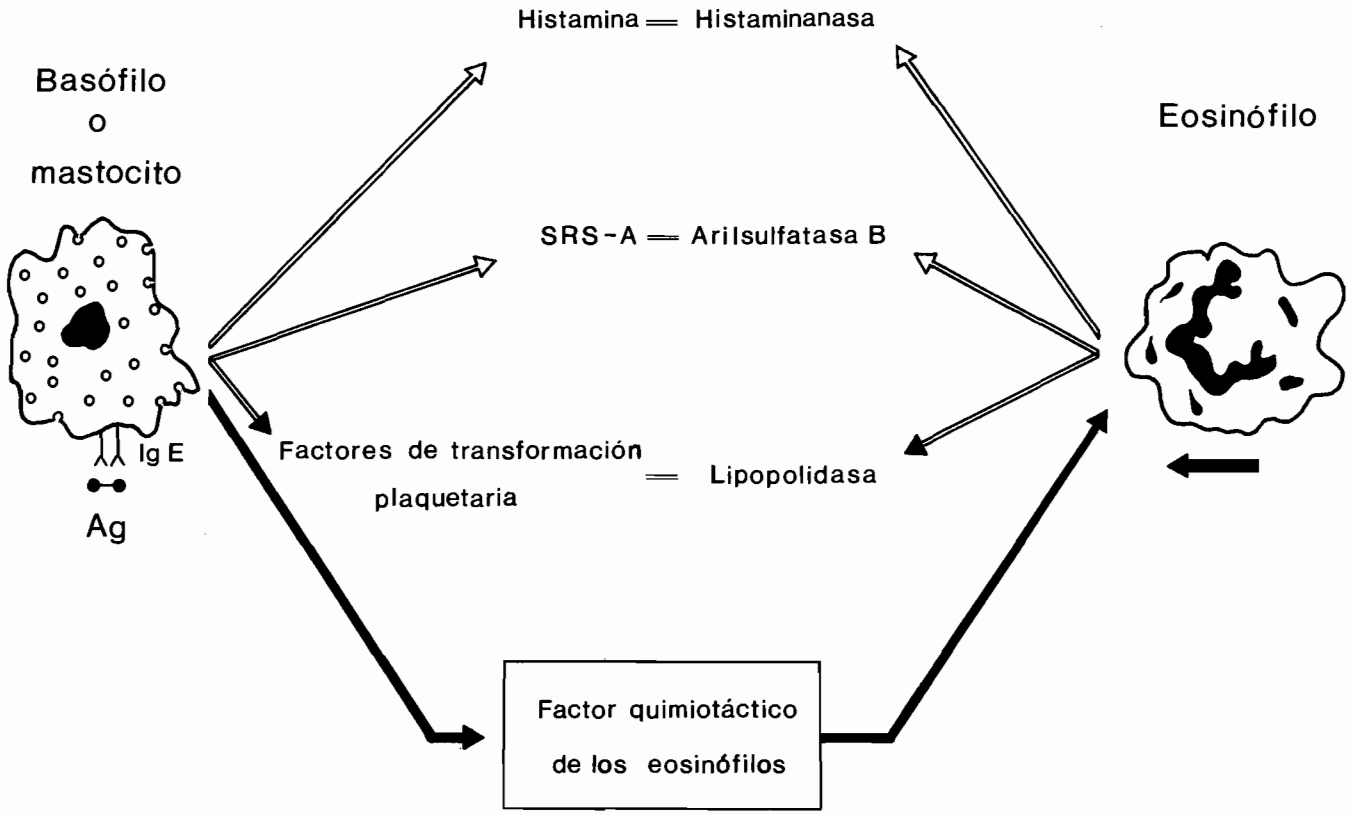


Fig. 23-5. Regulación de la respuesta anafiláctica por los eosinófilos. (Modificado de Roitt, 1978.)

laxia. En la propia reacción anafiláctica se libera por las células cebadas y los basófilos arilsulfatasa A, que inhibe la SRL-A. En los tejidos también se producen sustancias degradantes, como la monoaminooxidasa.

Anafilaxia en el hombre

Es un fenómeno relativamente raro y se observa después de una inyección de penicilina o sueros heterólogos, ingestión de aspirina, picadura de insectos (himenópteros), etc., en individuos que estaban previamente sensibilizados. Ocurre más a menudo en pacientes atópicos, en quienes existe una predisposición constitucional. El órgano efector fundamental en el hombre es el árbol respiratorio (laringe y bronquiolos). Se manifiesta por prurito y eritema generalizado, edema de glotis y laringe, dificultad y obstrucción respiratoria, contracción de la musculatura bronquial, síndrome asmatiforme e hipotensión que puede conducir al colapso y muerte. Los casos fatales son raros. La intensidad del cuadro está en relación con el grado de sensibilización y la naturaleza, dosis y vía de aplicación del antígeno.

Anafilaxia experimental

Varía en relación con los animales de experimentación empleados. Cada especie tiene un órgano efector distinto y, por ello, se cambia incluso la importancia de los diferentes mediadores.

En el cobayo, el órgano efector es la musculatura lisa de los bronquiolos. El animal presenta agitación, erizamiento del pelo, estornudos y respiración lenta y forzada por la contracción bronquiolar. Aparecen inspiraciones continuadas, no seguidas de espiraciones, aumento de las secreciones respiratorias, cianosis y a veces convulsiones. Al efectuar la autopsia, se observa enfisema pulmonar, gran edema peribronquial y contractura de los bronquios.

El perro tiene como órgano efector el complejo venoso hepático. Su contractura determina una congestión gastrointestinal. El aumento de permeabilidad provoca una hemoconcentración por la salida de líquido. Existe un descenso de la coagulación, que origina el desarrollo de hemorragias generalizadas.

En el conejo, el órgano diana son las arteriolas pulmonares. Se observa una congestión pulmonar con dilatación del ventrículo derecho, así como dilatación vascular en el hígado e intestino.

A nivel experimental se pueden desarrollar cuadros de anafilaxia pasiva. Consiste en inocular por vía intravenosa suero de un animal sensibilizado a otro que no lo está y, después de un período de incubación, administrar por vía parenteral a éste los antígenos que sensibilizaron al primero. El período de incubación es necesario para que los anticuerpos difundan y se fijen a las células cebadas y basófilos. En el caso en que intervengan las IgE, la prueba sólo es posible entre animales de la misma especie o de especies muy próximas. Algunos animales producen IgG_2 heterocitotrópica; en este caso se puede desarrollar la anafilaxia pasiva entre animales de distinta especie.

Anafilaxia en tejidos aislados

Para obtener este fenómeno se emplean técnicas experimentales tendentes a comprobar la acción de la histamina o la desgranulación de las células implicadas en la anafilaxia.

La prueba de Schultz-Dale consiste en tomar un órgano aislado de un animal sensibilizado, en el que la musculatura lisa sea un componente importante. Habitualmente se emplea un segmento de íleon terminal, la trompa uterina o una arteria. Se introduce en un baño temperado con líquido Tyrode (líquido nutritivo para vísceras) bajo un flujo de oxígeno y se fija a un quimógrafo. Al añadir el antígeno sensibilizante, el órgano se contrae. La intensidad y duración de este fenómeno se inscriben en el quimógrafo. Esta experiencia se puede realizar pasivamente, es decir, manteniendo previamente el órgano seleccionado de un animal no sensibilizado en suero de otro que sí lo está.

La desgranulación de los mastocitos se puede poner de manifiesto utilizando una porción de serosa abdominal de un animal sensibilizado y poniéndola en contacto con una solución del antígeno. La serosa al teñirse con tionina muestra las células cebadas desgranuladas. Se puede realizar asimismo una forma pasiva.

Este mismo fenómeno se puede demostrar en los basófilos empleando leucocitos lavados procedentes de un animal sensibilizado, en los que la adición del antígeno determina su desgranulación.

Tratamiento

La adrenalina es el fármaco fundamental para el tratamiento de la anafilaxia, al constituir de manera especial un agonista de los receptores β-adrenérgicos. Aumenta, por tanto, la concentración de AMPc e inhibe la liberación de histamina. Es, además, broncodilatador, tiene acción vasoconstrictora y ayuda a la reabsorción del edema. Su administración se puede completar con antihistamínicos y corticoides. Además, es necesario mantener la permeabilidad de las vías aéreas y, en ocasiones, será preciso administrar fármacos que mantengan la presión arterial.

Atopia

Engloba las reacciones anafilácticas de tipo local, donde la sensibilización y estimulación se realiza por antígenos extrínsecos. En el *lenguaje coloquial*, este conjunto de manifestaciones se conoce como «alergia». Su incidencia es bastante elevada y se estima al menos que un 10 % de la población presenta alguna manifestación de este tipo. Suele existir una clara predisposición familiar hereditaria, que se traduce en determinados individuos por una *especial habilidad* para producir IgE. Otras veces, lo que sucede es la alteración de sus sistemas reguladores; en este sentido se ha comprobado un escaso funcionamiento de los receptores β y una mayor respuesta de los α.

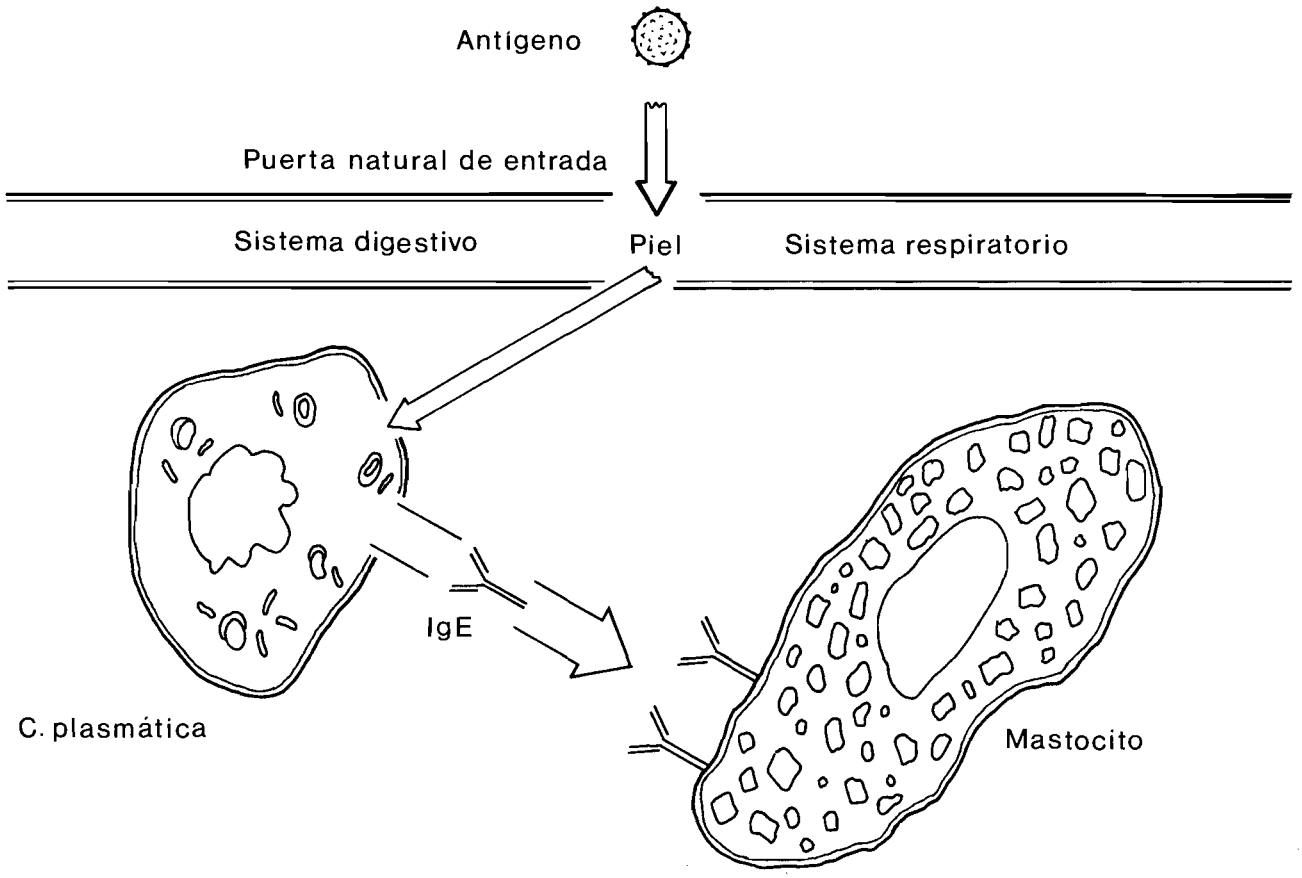


Fig. 23-6. Mecanismo de sensibilidad atópica. (Modificado de Frick, O. L.; en Fudenberg y cols., 1980.)

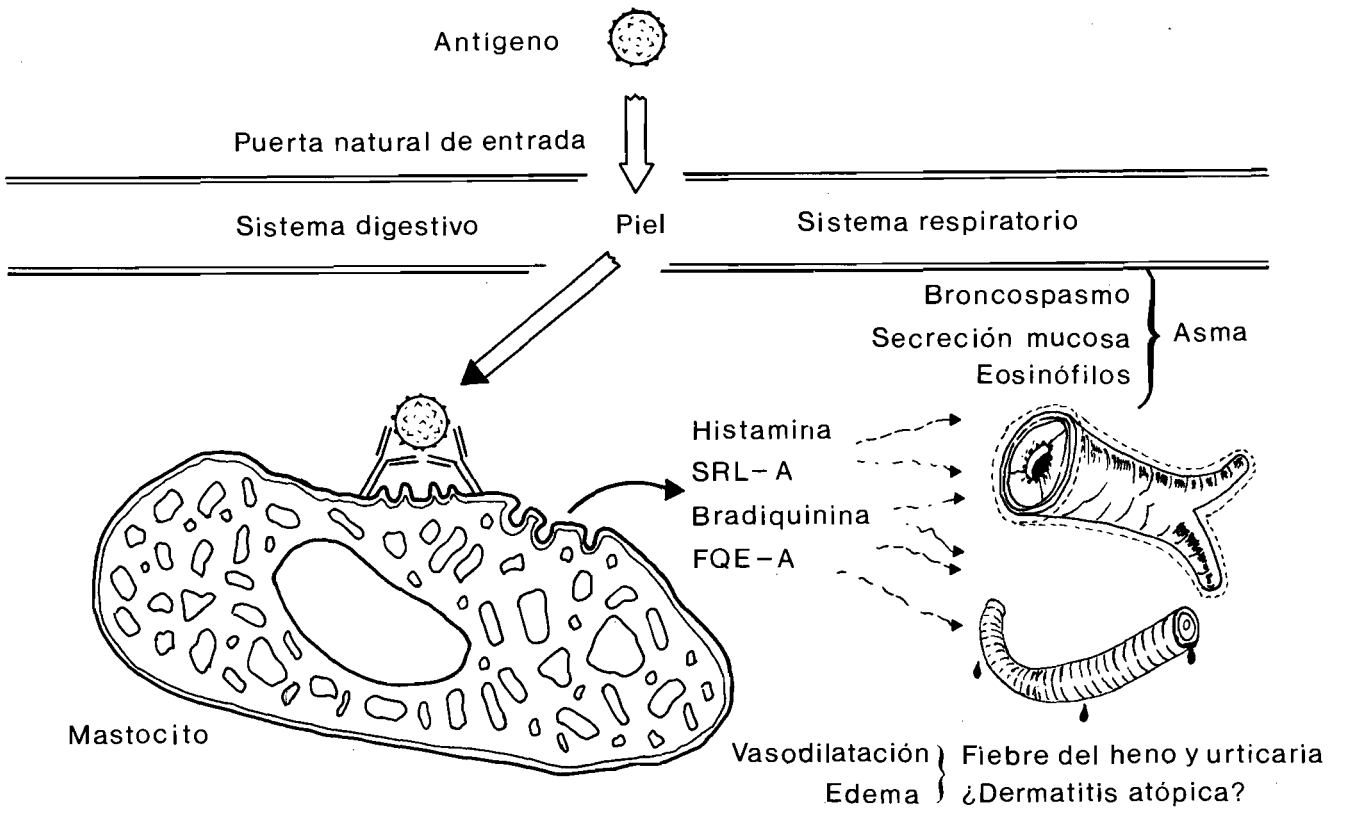


Fig. 23-7. Reacción atópica. (Modificado de Frick, O. L.; en Fudenberg y cols., 1980.)

Requisitos. A diferencia de la anafilaxia no se precisa la inyección sensibilizante previa, sino que la sensibilización es espontánea. Se realiza con antígenos ambientales, que actúan por inhalación, contacto o ingestión sobre la mucosa de las vías respiratorias, conjuntiva, piel o mucosa digestiva (fig. 23-6). Una vez conseguida la sensibilización alérgica, contactos ulteriores con los antígenos dan lugar a las diferentes manifestaciones atópicas (fig. 23-7).

Mecanismo. Es superponible al descrito para la anafilaxia, ya que intervienen las mismas inmunoglobulinas y células y se liberan idénticos mediadores. En su desarrollo participan fundamentalmente los mastocitos, al ser los más abordables por los antígenos debido a su localización (están situados en los tejidos conectivos subyacentes a piel y mucosas). Por otro lado, son fácilmente abordables por las inmunoglobulinas E producidas de modo fundamental por las formaciones linfoides paramucosas en el tubo digestivo y el aparato respiratorio. Las distintas formas clínicas de atopia están en relación con el órgano diana, donde la diferente estructura condiciona por parte de los distintos mediadores la expresión de manifestaciones variadas. De esta forma, la actuación de los antígenos sobre la piel provoca edema, eritema y prurito, en tanto que en el árbol bronquial produce contractura y aumento de secreción (fig. 23-7).

Antígenos. Aunque todos los antígenos que determinan reacciones de hipersensibilidad se denominan alergenos, el término se aplica más específicamente a los que desarrollan la atopia. Suelen ser sustancias ambientales y pueden ser productos de origen vegetal (en este apartado es muy importante el polen) o animal (secreciones, descamaciones y residuos de la piel, pelos y plumas), microbianos (bacterias, hongos, etc.), alimentos (nueces, mariscos, moluscos, pescados azules, fresas, chocolate, etc.), polvo de la casa (fundamentalmente por los ácaros que contiene) o fármacos (procainamidas, penicilina, aspirina, etc.).

Los fármacos pueden actuar directamente, determinando la liberación de mediadores, o como antígenos y, en este caso, con frecuencia se comportan como haptenos que se unen a proteínas plasmáticas para constituirse en antígenos completos conjugados.

Tipos de atopia. Varían en relación con el órgano efector. Cuando está localizado en las vías respiratorias pueden aparecer asma extrínseca por antígenos (afecta el árbol bronquial), coriza o rinitis, sinusitis, infecciones respiratorias crónicas y fiebre del heno (afecta la mucosa conjuntival y nasal). A nivel conjuntival se produce conjuntivitis alérgica y en la piel, dermatitis atópica, urticaria, prurito y edema de Quincke (angioedema o edema angioneurótico). En el aparato digestivo, por último, se producen alergias alimentarias y colitis alérgicas, en las que el síntoma denominador común es la diarrea.

Diagnóstico. Es fundamental para establecer el alergeno determinante de las distintas formas de atopia. Se pueden emplear las siguientes pruebas:

1. *Tests cutáneos.* Se fundamentan en la búsqueda, en los tejidos subcutáneos, de IgE fijada a los mastocitos. En el caso en que haya correspondencia entre ella y algunos de

los alergenos probados, aparece al poco tiempo una reacción caracterizada por eritema, edema y prurito. La técnica más empleada es la intradermorreacción con diversos alergenos, pero también se puede utilizar la escarificación o parches impregnados con los antígenos.

2. *Pruebas de provocación.* Consisten en administrar por vías naturales los alergenos con el fin de provocar los distintos cuadros de atopia. Se empieza con diluciones considerablemente altas del alergeno, que se van reduciendo hasta conseguir que se produzca el cuadro clínico. Se puede utilizar la instilación conjuntival, la inhalación, que provoca un cuadro de asma, y la administración oral en los casos de alergias alimentarias.

3. *Pruebas de transferencia pasiva.* Se realiza por el test de Prausnitz-Küstner. Consiste en tomar suero de un individuo alérgico e inocularlo en la piel de otro sano. Se deja un período de latencia de 24 horas para que las IgE se fijen a sus mastocitos. Transcurrido este tiempo, se inocula el alergeno en idéntico lugar. En caso de que exista correspondencia, se origina una reacción de tipo alérgico, con sus signos habituales: edema, eritema y prurito.

4. *Pruebas de desgranulación de los basófilos.* Se pueden emplear en aquellos casos en que existan IgE circulantes, bien de una forma activa (basófilos de un sujeto con hipersensibilidad de tipo I) o pasiva (incubación de basófilos de un individuo normal con suero de un alérgico). El contacto con el alergeno específico da lugar a su desgranulación.

Existen otras pruebas por las que no se demuestra el antígeno, pero sí el estado alérgico, y esquemáticamente se describen a continuación:

5. *Determinación de IgE.* La tasa de esta inmunoglobulina suele estar elevada en los estados atópicos. Se puede emplear para su detección el radioinmunoensayo o la técnica de ELISA.

6. *Medida del nivel de histamina.* Procedimiento caro, aunque sencillo de sistematizar y automatizar.

7. *Eosinofilia.* Si bien aparece en numerosos procesos, es muy constante en la atopia.

Tratamiento

Las medidas que hay que tomar se establecen sobre la base de contrarrestar las etapas fisiopatogénicas que aparecen en los fenómenos atópicos. Son muy variadas y esquemáticamente se resumen en las siguientes acciones:

1. Medidas tendentes a evitar que el Ag penetre en el individuo atópico. Consisten en separar en lo posible al sujeto del alergeno. Por ejemplo, en el caso de alergia al polvo de la casa se emplean sistemas que lo eliminen e impidan su acumulación y su contacto con el paciente.

2. Medidas tendentes a evitar la reacción del alergeno con la IgE. Se emplea la hiposensibilización, que pretende provocar una tolerancia al alergeno, inoculando éste por vía subcutánea de una forma periódica y progresivamente creciente. Mediante esta técnica se produce IgG frente a alergeno. Estas inmunoglobulinas tienen la característica de ser bloqueantes, es decir, en una penetración ulterior del antígeno reaccionan con éste e impiden que se ponga en contacto con la IgE fijada a las células.

La hiposensibilización causa, además, la disminución de la tasa de IgE por afectar su síntesis y una menor respuesta de las células efectoras al alergeno.

3. Fármacos que actúan sobre los mecanismos de liberación de los mediadores:

a) Simpaticomiméticos. Como ya se ha señalado, estimulan la adenilciclasa de la membrana, aumentando la concentración intracelular de AMPc, con lo que se inhibe o disminuye la liberación de mediadores. Se emplean preferentemente los estimulantes de los receptores adrenérgicos β_2 (efedrina) o los más modernos (isoprenalina, orciprenalina, terbutalina, fenoterol [isoetarina], salbutamol, etc.).

b) Anticolinérgicos. Impiden la activación de la guanilato-ciclasa por la acetilcolina. Se emplea atropina o mejor aún el bromuro de ipratropio.

c) Corticoides, sobre la base de que aumentan los receptores β-adrenérgicos.

d) Metilxantinas. La teofilina y sus sales aumentan la concentración intracelular de AMPc al inhibir la fosfodiesterasa.

e) Inhibidores de los mediadores. Los antihistamínicos bloquean los receptores H_1 de la histamina, impidiendo que ésta ejerza su acción.

El ketotifeno, aparte su poder preventivo, es un antagonista de la SRS-A y bloquea de forma prolongada los receptores H_1.

f) Cromonas. Se utiliza el cromoglicato disódico, que estabiliza las membranas e impide la liberación de mediadores. Su uso es profiláctico, antes del desarrollo de los fenómenos atópicos.

HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO II, CITOTOXICA O CITOLITICA

Son reacciones que aparecen cuando un anticuerpo se enfrenta con su correspondiente antígeno situado en la membrana de una célula y provoca su destrucción. El antígeno puede ser un componente estructural de la membrana o bien un antígeno o hapteno extraño fijado previa e íntimamente a aquélla. Las inmunoglobulinas implicadas son fundamentalmente IgG e IgM. En este mismo tipo están incluidas las reacciones producidas por los antígenos cuando se sitúan en membranas basales.

Una vez conseguida la sensibilización, un contacto ulterior causa la muerte celular por los siguientes mecanismos: lisis por fagocitosis, citotoxicidad mediada por células anticuerpo-dependientes y destrucción por la activación del complemento. La lisis mediada por células anticuerpo-dependientes ha sido separada de este grupo por algunos autores para constituir un sexto tipo de hipersensibilidad.

Mecanismo (fig. 23-8). La reacción del anticuerpo con el antígeno situado en la superficie celular provoca, por un lado, que por la fracción cristalizable puedan unirse a las denominadas células K (*killer* o asesinas) y producir una destrucción no fagocitaria de la célula diana. Es necesario señalar que, para causar este efecto, las células K necesitan escasa cantidad de anticuerpos unidos a los antígenos celulares.

Por otro lado, el complejo antígeno-anticuerpo, y también por la fracción Fc de éste, produce una adherencia opsónica con la consecuente fagocitosis. En este tipo de reacciones, la unión antígeno-anticuerpo suele acoplarse y activar casi siempre el complemento. Esta situación condiciona que en

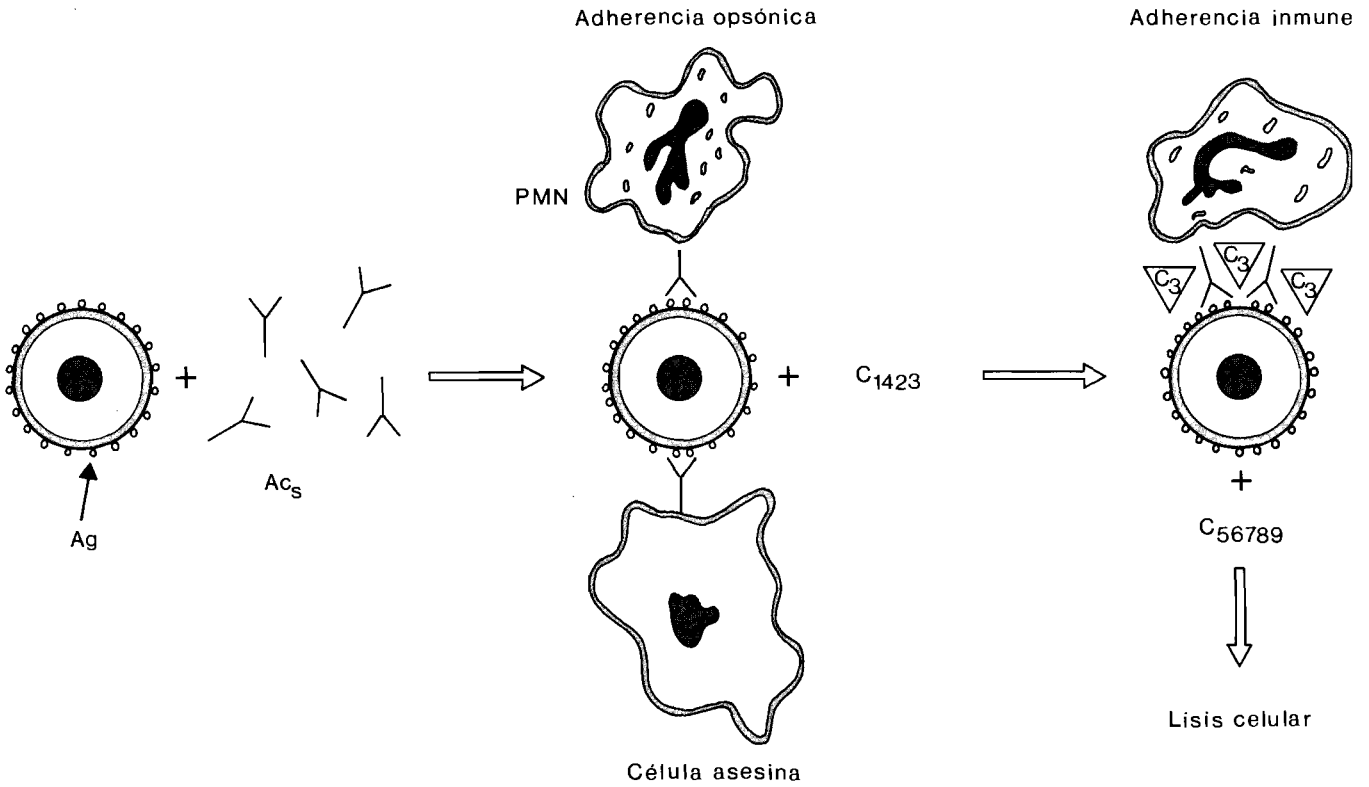


Fig. 23-8. Mecanismo de hipersensibilidad de tipo II. (Modificado de Roitt, 1978.)

la primera fase exista una adherencia inmune gracias al C3b, con la correspondiente fagocitosis y una lisis celular mediada exclusivamente por complemento, cuando su activación alcanza a C9.

Gell y Coombs incluyen aquí el tipo V de hipersensibilidad, definido por Roitt como hipersensibilidad estimuladora. Argumentan para ello que, en ambos casos, las reacciones se ponen en marcha por contacto entre un antígeno situado en la superficie celular y su correspondiente anticuerpo. La diferencia está en el resultado, puesto que en la hipersensibilidad estimuladora no existe destrucción de la célula, sino un estímulo funcional de ésta.

El mecanismo de la hipersensibilidad tipo II es el responsable del desarrollo de algunos procesos que pueden ser englobados en: enfermedades autoinmunes, reacciones por isoinmunización y reacciones a los fármacos. En el campo de las enfermedades autoinmunes tienen este origen la tiroiditis de Hashimoto, en la que se encuentran IgG antitiroideas, y el síndrome de Goodpasture, en el que una alteración de la membrana basal del glomérulo provoca que ésta se convierta en antigénica. Los anticuerpos producidos interaccionan con dicha membrana y por una reacción cruzada con la basal de los alveolos se produce una activación del complemento y una destrucción, que se traduce por fallo renal, hemorragias pulmonares y algunas enfermedades hematológicas, como las anemias hemolíticas autoinmunes, que en ocasiones tienen un origen infeccioso, granulocitopenias y trombocitopenias.

En las reacciones por isoinmunización, las reacciones postransfusionales, la incompatibilidad materno-fetal y el rechazo de homoinjertos por anticuerpos tienen un origen citotóxico.

Los fármacos desarrollan fundamentalmente reacciones hematológicas. Tienen particular interés las anemias hemolíticas inducidas por fármacos, bien porque éstas se fijan firmemente a la membrana eritrocitaria (penicilina) para posteriormente reaccionar con los anticuerpos o bien porque el fármaco reaccione con su Ac y posteriormente se deposite en el eritrocito (quinina) o altere la membrana del hematíe transformándola en antigénica (metil-dopa). En todos los casos puede haber lisis reactiva de hematíes normales por los fragmentos C5b libres, procedentes de la activación en cascada del complemento. El mismo mecanismo se pone en marcha en la púrpura trombocitopénica por sedormid (tranquilizante que se empleó hace años).

HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO III O MEDIADA POR COMPLEJOS ANTIGENO-ANTICUERPO

Surge como consecuencia de una reacción entre antígenos solubles y anticuerpos precipitantes. Los complejos formados se depositan en los vasos y membranas basales provocando la activación del complemento y una agregación plaquetaria, y se ocasiona una lesión vascular y tisular con las características de una inflamación aguda. Los procesos que tienen este mecanismo de producción se denominan enfermedades por complejos inmunes.

Anticuerpos. En este tipo de hipersensibilidad intervienen de forma característica las IgG e IgM, que tienen propiedades precipitantes y fijadoras del complemento. En la fase inicial del daño se estima que hay una intervención de

fenómenos de tipo anafiláctico, por lo que también está implicada la IgE o una IgG citotrópica.

Antígenos. Es necesario que se trate de antígenos solubles, es decir, susceptibles de ser precipitados. La reacción no se desarrolla con antígenos corpusculares. Pueden ser extrínsecos o intrínsecos y muchos son desconocidos. Entre los exógenos destacan las proteínas (sueros heterólogos, proteínas de heces de pájaros), fármacos (penicilina benzatina), productos bacterianos, fúngicos o parasitarios (toxinas, toxoides, esporos) y virus. De los endógenos tienen importancia los antígenos tumorales, ácidos nucleicos, inmunoglobulinas, etc.

Mecanismo (fig. 23-9). En una primera fase, el antígeno y el anticuerpo reaccionan para formar los complejos, formación que sigue las reglas de la reacción de precipitación, es decir, su tamaño y grado de precipitación están en relación con las proporciones relativas de antígeno y anticuerpo que se ponen en contacto.

La reacción da lugar a la activación del complemento y a una agregación plaquetaria.

En el primer caso se producen los siguientes efectos:

1. Se liberan C3a y C5a, que por sus propiedades de anafilotoxinas actúan sobre las células cebadas y basófilos, provocando la liberación de histamina que actúa sobre los capilares, y aumentan su permeabilidad.

2. Estas mismas fracciones y el complejo C5b67 tienen propiedades quimiotácticas, de tal forma que atraen los polimorfonucleares al lugar donde se ha ocasionado la precipitación. La adherencia de los neutrófilos a los complejos para fagocitarlos está favorecida por la fracción cristalizable de las inmunoglobulinas que los forman y por el fragmento C3b. Los neutrófilos liberan enzimas proteolíticas (todas las que causan la digestión en las partículas fagocitadas) y producen una lesión tisular, proteínas policatiónicas y enzimas formadoras de quininas, que aumentan la permeabilidad. La liberación de estas sustancias se produce en el curso de la fagocitosis o por exocitosis, si los fragmentos no pueden ser fagocitados por su tamaño, o es causada por el fragmento C5a.

3. En el curso de la activación quedan libres fragmentos de C5b, que se unen a las células próximas y causan su destrucción al continuar la secuencia de activación, es decir, se produce una lisis reactiva. Este hecho contribuye a aumentar la necrosis.

4. La activación del complemento origina también una agregación plaquetaria, fenómeno que también se produce por la propia formación del complejo. La agregación plaquetaria se traduce en la formación de trombos, que condicio-

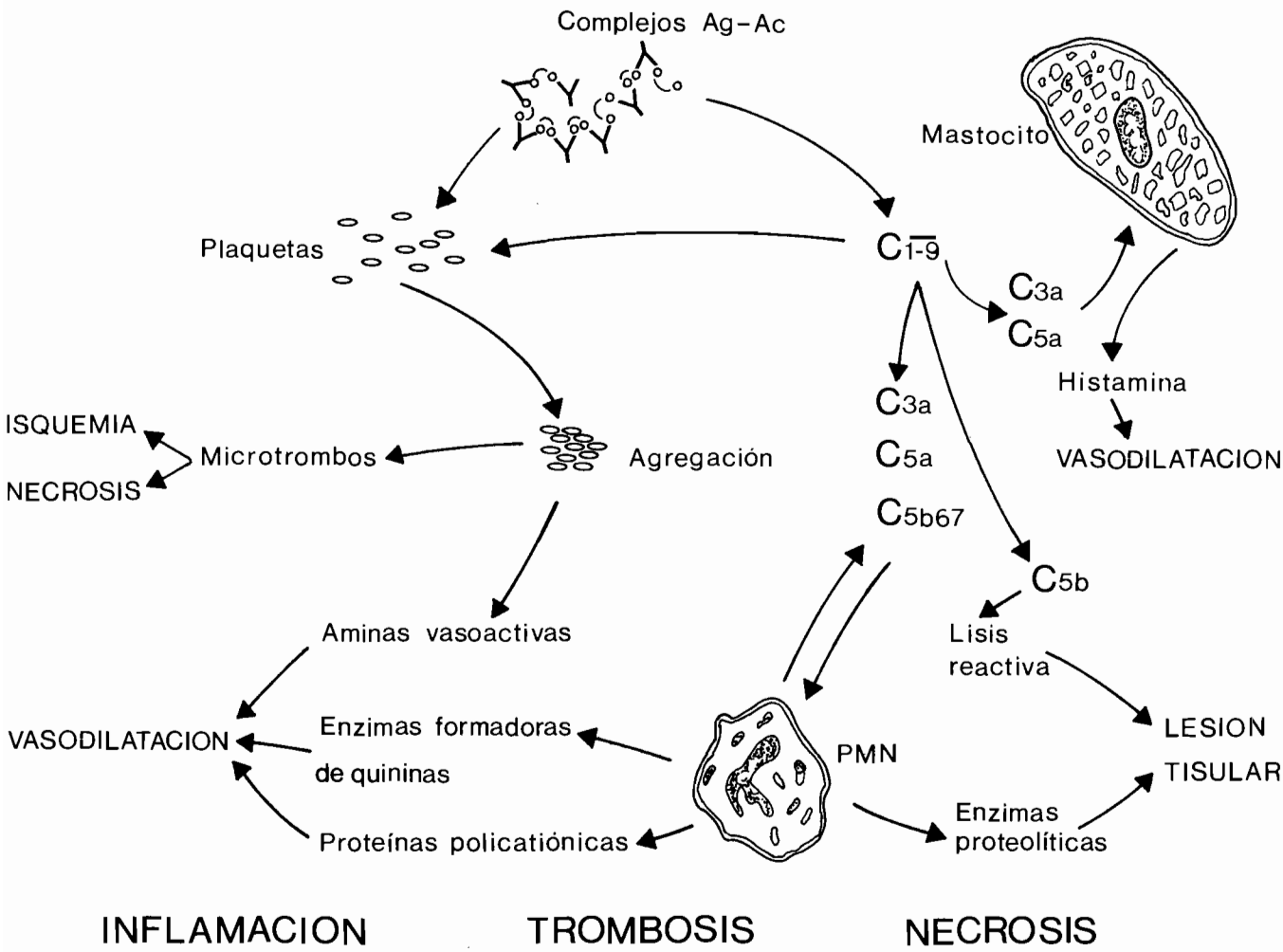


Fig. 23-9. Mecanismo de hipersensibilidad de tipo III.

nan una isquemia y una mayor necrosis. En su curso se liberan por las plaquetas aminas vasoactivas que refuerzan el aumento de permeabilidad.

Existen pruebas de que en el inicio de las reacciones tipo III existe un componente anafiláctico, de tal forma que el antígeno reaccionaría con sus correspondientes IgE fijadas a las células cebadas y basófilos. Se liberan histamina y factores de transformación plaquetaria. La histamina por su poder vasodilatador provoca la precipitación de los complejos en el seno de la pared del vaso y se inicia la secuencia antes citada. Los factores activadores de las plaquetas serían responsables de una agregación plaquetaria, con formación de trombos y liberación de sustancias vasoactivas.

En resumen, se produce una vasodilatación con edema e infiltrado de neutrófilos, es decir, una inflamación aguda con hemorragia y necrosis.

Para que la reacción se produzca, es imprescindible la intervención del complemento y de los polimorfonucleares. Su desarrollo se inhibe por la administración del suero antineutrófilo, mostazas nitrogenadas, que destruyen los polimorfonucleares, o veneno de cobra, que produce una depleción de complemento.

Dado que la hipersensibilidad tipo III sigue las normas de una reacción de precipitación, se describen dos grupos de cuadros en relación a éstas. Cuando hay exceso de anticuerpos circulantes, condiciona el antígeno de tal forma que, aunque penetre en gran cantidad, queda bloqueado *in situ* en los pequeños vasos y tejidos próximos; son los fenómenos tipo Arthus o reacciones locales por complejos inmunes. Otros anticuerpos aparecen cuando hay un exceso relativo de antígeno circulante. Se forman unos complejos medianos y solubles que circulan y se depositan en pequeños vasos de determinadas zonas y en algunas membranas basales. Serían los fenómenos tipo «enfermedad del suero» o reacciones generales por complejos inmunes circulantes.

Fenómeno tipo Arthus. A principios de siglo, Arthus, al estudiar la tolerancia a los sueros heterólogos, inoculaba por vía subcutánea suero equino a conejos. La pauta de administración era semanal y se comprobó que, a pesar de tolerarse muy bien aquéllos, al cabo de la 3.ª ó 4.ª inyección desarrollaba, en el mismo lugar de la inoculación y a las 2-4 horas de ésta, una lesión caracterizada al principio por eritema, luego edema y en ocasiones equimosis. Si la inmunización era muy grande, surgía la necrosis. La lesión alcanzaba su máxima expresión hacia las 8 horas para luego regresar. Desde un punto de vista histológico se produce una vasculitis con lesión no sólo del vaso, sino también de los tejidos adyacentes, con características de una inflamación aguda.

Este fenómeno, como los incluidos en este grupo, se diferencia de la hipersensibilidad tipo I porque es de aparición más tardía, sus células efectoras son fundamentalmente neutrófilos y plaquetas, interviene el complemento, las inmunoglobulinas implicadas son IgG e IgM y no se inhibe por la administración de antihistamínicos o de agonistas β-adrenérgicos, aunque sí por anticoagulantes.

Este fenómeno no constituye sólo una observación experimental, pues en los años en que se utilizaba profusamente la seroterapia también se describió en el hombre, como consecuencia de la reiteración de aquélla.

Existen otros procesos clínicos que tienen el mismo esquema fisiopatológico, entre los que cabe señalar la *enfermedad de los granjeros.* Se manifiesta a nivel pulmonar y surge por una gran sensibilización a los esporos de *Aspergillus* termófilos que existen en el moho seco. A las 6-8 horas de una aspiración por un individuo sensibilizado aparece una dificultad respiratoria.

También la llamada *enfermedad de los cuidadores de palomas* tiene asimismo como órgano efector el pulmón. La sensibilización se produce frente a una proteína sérica que existe en las heces de palomas. Estas se movilizan al limpiar los palomares, penetran por vía aérea y causan la sensibilización o bien el desarrollo del cuadro, cuando aquélla se había producido previamente.

Fenómenos tipo «enfermedad del suero». La enfermedad del suero, como el fenómeno de Arthus, aunque rara en la actualidad, en épocas anteriores era una complicación muy frecuente de la seroterapia, cuando ésta constituía una práctica más común. Aparecía aproximadamente hacia el octavo día de su aplicación.

Su fisiopatología es superponible a la del fenómeno de Arthus, pero tiene algunos rasgos específicos. En primer lugar, es necesario señalar que sólo hay una inyección de antígeno que a la vez actúa de sensibilizante y desencadenante. El suero administrado actúa como antígeno, informando el sistema inmunocompetente que comienza a formar anticuerpos específicos alrededor del sexto día. Debido a las grandes cantidades de suero inyectados y al poco tiempo transcurrido, no se elimina convenientemente y se halla, por tanto, a mayor concentración que los anticuerpos. Por esta razón, al reaccionar ambos, se forman complejos de tamaño mediano que no son eliminados por los macrófagos. Por otra parte, al tratarse de complejos solubles, circulan por el torrente sanguíneo, se depositan en los capilares de ciertas zonas y condicionan los síntomas de la enfermedad. En los procesos que tienen esta base, los complejos se ponen de manifiesto por inmunofluorescencia y muestran un aspecto granuloso. Se depositan en tejidos donde se filtran estos complejos inmunes, como la lámina elástica interna de los vasos o las membranas basales de piel, articulaciones, riñones o pulmón. En el depósito, parece ser que el aumento de permeabilidad a causa de fenómenos de tipo anafiláctico favorecería que los complejos quedaran retenidos en la pared vascular.

El cuadro se caracteriza por adenopatías, fiebre (depósitos en los plexos coroideos), tumefacción dolorosa de las articulaciones (depósitos a este nivel), albuminuria (presencia en el glomérulo) y urticaria con prurito (en piel), y analíticamente está traducido por disminución del complemento.

La mayor parte de las glomerulonefritis tienen un origen por inmunocomplejos circulantes. De ellas destacan las postestreptocócicas y las del lupus eritematoso diseminado. El mismo origen tienen también algunas artritis (reumatoide), vasculitis (VHB), hepatitis B, eritema nudoso, lepra, sífilis, etc.

HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO IV, CELULAR O RETARDADA

Surge cuando un linfocito T, previamente sensibilizado, reacciona con su correspondiente antígeno ocasionando un daño tisular. Existe un paralelismo entre la inmunidad y la hipersensibilidad celular, dado que los mecanismos de producción son los mismos y en la defensa siempre se produce daño tisular. Podríamos afirmar que son dos manifestaciones de un mismo proceso. Así, por ejemplo, la resistencia a

la tuberculosis, que es de base celular, va acompañada siempre de lesión tisular.

Características y base celular:

1. Tras la puesta en contacto con el antígeno, las manifestaciones tardan en aparecer 24-48 horas. Por esta razón se ha denominado «retardada», en contraposición con la inmediata que surge rápidamente o pocas horas después del contacto antigénico.
2. No intervienen las inmunoglobulinas, al ser imposible de transferir mediante suero. Los responsables son los linfocitos, ya que es susceptible de ser transferida con ellos o con un extracto soluble, denominado «factor de transferencia».
3. La población linfocitaria que interviene es la formada por los linfocitos T, pues no aparece en animales timodeficientes o a los que previamente se les ha extirpado este órgano. Por otro lado, la sensibilización con dinitroclorobenceno, estimulante específico de esta inmunidad, da lugar a la proliferación tan sólo de las áreas T-dependientes de los ganglios linfáticos. Interviene fundamentalmente la subpoblación TDHT.
4. Aunque los efectos finales son en gran parte inespecíficos, tiene una mayor especificidad que la hipersensibilidad humoral, pues la modificación de los portadores (*carriers*) provoca una reactividad baja o nula.
5. Histológicamente, aunque al principio existe un infiltrado de neutrófilos, lo característico es que éste se transforma en otro infiltrado de células mononucleares, principalmente de macrófagos y linfocitos. Pueden existir células epitelioides y gigantes, reacción que se debería a un nuevo tipo de hipersensibilidad, la granulomatosa. Sin embargo, en ésta, la base celular es fundamental.

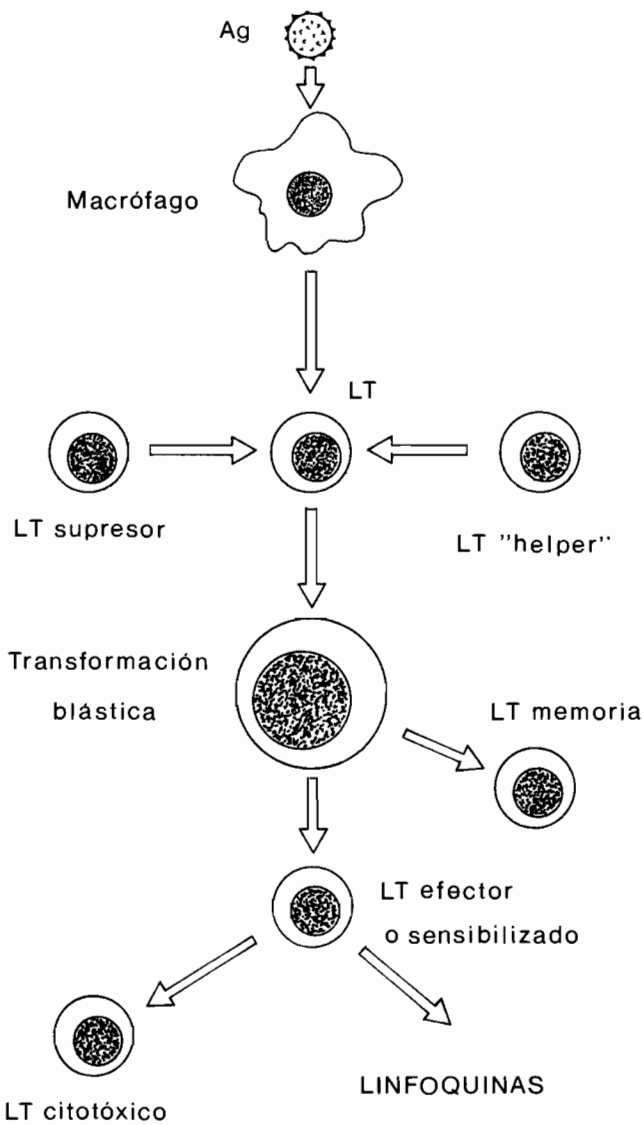


Fig. 23-10. Mecanismo de hipersensibilidad de tipo IV.

En este tipo IV, el infiltrado es perivascular, con las características de una inflamación crónica, en contraposición con la que aparece en el fenómeno de Arthus, que es aguda, puesto que el infiltrado es de polimorfonucleares fundamentalmente.

Antígenos. Son todos timo-dependientes y celulares (la mayoría), y están depositados sobre la superficie de estas células. Destacan las bacterias, virus, protozoos y células de transporte y tumorales. En cuanto a las bacterias son particularmente importantes las que se desarrollan en el interior de las células (*Mycobacterium tuberculosis, M. leprae, Brucella, Listeria monocytogenes*, etc.). Los virus, al depositarse en la superficie celular, producen la conversión en «diana» de estas células. Este tipo de hipersensibilidad es responsable de la aparición de la mayoría de los exantemas en las enfermedades víricas (sarampión, viruela, etc.) y de las lesiones del herpes simple.

En este tipo de hipersensibilidad pueden actuar como antígenos sustancias que no lo harían para la humoral debido a su bajo peso molecular. Así, en el caso de las dermatitis por contacto actúan alergenos no celulares de bajo peso molecular, como el dinitroclorobenceno, cloropícrico, níquel, etcétera. En este caso actúan como haptenos que se unirían a las proteínas de la piel para adquirir su poder antigénico completo.

Mecanismo (fig. 23-10). Al penetrar un antígeno capaz de poner en marcha una reacción de hipersensibilidad celular, es captado por los macrófagos que informan los linfocitos T. La respuesta de éstos está modulada por dos poblaciones de linfocitos T, los supresores y los estimuladores o *helper*. En el caso de que se determine una respuesta, existe una transformación blástica de la que surgen dos poblaciones de linfocitos T: efectores (TC y TDHT) y T de memoria. Estos últimos tienen una vida muy larga y guardarán recuerdo del contacto. Los efectores están específicamente sensibilizados frente al antígeno y pueden dar lugar a dos fenómenos: un efecto citotóxico directo y secreción de linfoquinas. En el primer contacto, la respuesta suele tardar en aparecer un tiempo similar a la humoral, unos 7 días. En un contacto ulterior, esta respuesta es más rápida y surge a las 24-48 horas.

1. Los linfocitos T citotóxicos se unen al antígeno para destruirlo. Este efecto es claro cuando el antígeno es un constituyente de una célula o se ha fijado a ella. Para su destrucción, el linfocito T citotóxico y los antígenos de la célula deben ponerse en contacto íntimamente y se desconoce el mecanismo por el que se llega a la lisis celular. Una

vez conseguida la destrucción, el linfocito T inicia de nuevo su actividad. Este tipo de citotoxicidad, mediada por células, es directa, pues no requiere la intervención de anticuerpos ni las del complemento, como en el caso del tipo II. Cuando en las reacciones de citotoxicidad celular intervienen los anticuerpos y las células *killer*, se habla de citotoxicidad mediada por células anticuerpo-dependientes.

El mecanismo citotóxico de la hipersensibilidad celular desempeña un importante papel en algunas enfermedades autoinmunes y en el rechazo de aloinjertos y tumores.

2. Producción de linfoquinas. Estas sustancias, que actúan de forma inespecífica, tienen como misión el amplificar la respuesta e involucrar otras células para crear un foco inflamatorio donde se encuentra el antígeno con el fin de destruirlo. Se han descrito múltiples linfoquinas o mejor actividades biológicas de éstas, pues es probable que una de ellas posea a la vez varias propiedades. Se pueden integrar en grupos diferentes en relación con las células que impliquen los efectos biológicos distintos que determinan. Para su actuación no se necesita la presencia del antígeno, que, por el contrario, sí es preciso para su producción.

a) Linfoquinas que actúan sobre los macrófagos. El factor quimiotáctico de los macrófagos (MChF) atrae los monocitos sanguíneos y los macrófagos tisulares al lugar donde es liberado. Una vez aquí, el factor inhibidor de la migración de los macrófagos (MIF) impide que estas células se muevan fuera de esta área. El factor activador de los macrófagos (MAF) produce cambios morfológicos y fisiológicos en estas células, con el fin de que causen un efecto destructor más activo.

Todas estas sustancias desempeñan un importante papel en la destrucción de bacterias que viven intracelularmente. Así, por ejemplo, sin su intervención, los macrófagos son incapaces de destruir los bacilos tuberculosos que viven en su interior. El factor específico, armador de los macrófagos (SMAF), actúa específicamente condicionando éstos para que destruyan las células tumorales u otras que han determinado su producción. Es un verdadero anticuerpo citofílico: por su fracción Fc se une a los macrófagos y por su Fabs reconoce los antígenos de la célula diana. El macrófago se convierte, pues, en una célula *kill*er específica.

b) Linfoquinas que actúan sobre los linfocitos. El factor de transferencia (TF) es una sustancia de bajo peso molecular (10.000 daltons), termoestable, que confiere reactividad al receptor para todos los antígenos a los que el dador haya sido sensibilizado. Se ha demostrado sólo en el hombre y se ha empleado para tratar algunas enfermedades (candidiasis mucocutánea, lepra lepromatosa, etc.) y deficiencias T.

El factor mitogénico de los linfocitos (MF) o de la transformación blástica de los linfocitos se encarga de aumentar la respuesta al condicionar la multiplicación de linfocitos.

c) Linfoquinas que actúan sobre los neutrófilos. Existen dos, una quimiotáctica y otra inhibidora de su migración.

d) Linfoquinas que actúan sobre células vecinas. Las linfotoxinas determinan la citólisis de los fibroblastos, que sería la responsable de la formación de *caseum* en la tuberculosis. El factor que inhibe la proliferación celular tendría una gran importancia en los tumores.

e) Otras linfoquinas. El factor reactivo de la piel, inyectado intradérmicamente, causa un aumento de la permeabilidad vascular y una exudación celular. Producen «interferón» directamente o estimulando su producción en los macrófagos. El factor activador de los ganglios linfáticos causa en éstos una multiplicación celular.

El efecto final de esta hipersensibilidad resulta del cómputo de la actuación conjunta de estas sustancias. Existe un mecanismo de autorregulación y, por eso, las linfoquinas determinan la producción de una prostaglandina E por los macrófagos, que inhibe su liberación por los linfocitos B y la transformación blástica de éstos.

Las linfoquinas se emplean en pruebas *in vitro* para determinar la capacidad de respuesta celular de un individuo. Las técnicas más empleadas son el test de la inhibición de la migración de los macrófagos y el de transformación blástica de los linfocitos. El test de citotoxicidad se utiliza para demostrar la capacidad destructora de células de los linfocitos T citotóxicos.

Implicaciones de la hipersensibilidad celular. La inmunidad e hipersensibilidad celular son dos facetas de un mismo proceso, en las que se valoran la defensa y el daño tisular que producen los mecanismos que llevan a aquélla. Intervienen en el rechazo de aloinjertos, en algunas enfermedades autoinmunes, en la defensa frente al desarrollo de tumores, en la dermatitis por contacto (la sensibilización se realiza frente a antígenos relativamente simples, unidos a proteínas de la piel), en la hipersensibilidad y resistencia a algunas infecciones.

Hipersensibilidad en las infecciones. El prototipo es la hipersensibilidad a la tuberculosis, valorada en el fenómeno de Koch. En 1891, este autor comprobó que la inoculación subcutánea, en la pata posterior de un cobayo, de bacilos tuberculosos vivos iba seguida a los 15 días de una lesión nodular en el punto de inoculación con adenopatía regional. A las 3-4 semanas aparecen una necrosis tisular y ulceración, que continuaban hasta que el animal al cabo del tiempo moría.

Si a un animal tuberculizado se le inoculaban de igual forma bacilos tuberculosos, a las 4-5 semanas de la primera inoculación, aparecía a las 12-24 horas en el lugar de inoculación una reacción inflamatoria muy violenta, que evolucionaba hacia una ulceración necrótica que cicatrizaba rápidamente. No iba acompañada de adenopatía regional ni se modificaba el proceso primitivo.

El fenómeno de Koch revela, por una parte, que la inmunidad adquirida después de la primoinoculación cura el efecto de la segunda, pero es insuficiente para detener el desarrollo de la enfermedad. Por otra parte, condiciona la sensibilización del animal al bacilo tuberculoso o sus productos. De esta forma se puede obtener el mismo efecto utilizando tanto la tuberculina antigua como PPD (derivado purificado). La alergia se establece a la tuberculoproteína.

De acuerdo con la fecha de la segunda inoculación se pueden obtener diferentes respuestas. Si ésta tiene lugar entre el 25 y 35 día, hay un segundo chancro con una incubación corta, pero que no cicatriza, es decir, ha comenzado la sensibilización, pero la inmunidad es aún insuficiente. Si se realiza a los 90 días, no aparece nada más que un fenómeno de Koch en miniatura, con una evolución muy recortada; existe una gran hipersensibilidad y resistencia.

Este tipo de hipersensibilidad es la responsable de la caseificación, cavitación y toxemia general que aparece en la tuberculosis. Interviene también en las lesiones que apare-

Tabla 23-2. Reacciones alérgicas de diagnóstico de algunas enfermedades infecciosas

1. *Enfermedades bacterianas*
   Reacción a la melitina (brucelosis)
   Reacción a la tuberculina (tuberculosis)
   Reacción a la tularina (tularemia)
   Reacción a la nocardicina (nocardiosis)
   Reacción a la maleína (muermo)
   Reacción a la lepromina (lepra), reacción de Mitsuda
   Reacción a extractos de bacilo de Ducrey (chancro blando)
2. *Enfermedades por virus*
   Reacción de Enders (virus de la parotiditis)
3. *Enfermedades por hongos*
   Reacción a la tricofitina (dermatomicosis)
   Reacción a la coccidina (coccidioidosis)
   Reacción a la histoplasmina (histoplasmosis)
   Reacción a la candidicina (*Candida*)
4. *Enfermedades por parásitos*
   Reacción a extractos de leishmanias, reacción de Montenegro
   Reacción a la toxoplasmina (toxoplasmosis)
   Reacción a productos del quiste hidatídico, reacción de Casoni

cen en otras enfermedades infecciosas. Entre las bacterias, desempeña un papel importante sobre todo en aquellas en las que el agente es fundamentalmente intracelular (lepra, brucelosis, listeriosis, etc.). El exantema del sarampión y viruela tiene este origen, así como las lesiones vesiculares del herpes simple. En la candidiasis, dermatomicosis, coccidioidomicosis, leishmaniosis y esquistosomiasis desempeña un importante papel. En general se puede afirmar que interviene fundamentalmente en infecciones crónicas o cuando fallan otros procesos defensivos. La hipersensibilidad celular a determinados agentes se puede emplear para establecer el diagnóstico de algunas enfermedades infecciosas empleando técnicas de intradermorreacción. La valoración de estas reacciones debe efectuarse tardíamente y fundamentalmente por la induración que producen. En tabla 23-2 se reflejan algunas de estas pruebas.

HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO V O ESTIMULADORA

Surge cuando un anticuerpo reacciona con un antígeno situado en una membrana de una célula, provocando estimulación funcional y no su destrucción (fig. 23-11).

Tiene este origen la enfermedad de Graves-Basedow. Es un proceso autoinmune en el que se produce IgG frente a antígenos de las células tiroideas, denominadas inmunoglobulinas estimulantes del tiroides (TSI). Se han descrito dos, el estimulador tiroideo de acción prolongada (LATS) y el estimulador tiroideo humano específico (HSTS). El primero se diferencia del segundo, en que estimula tiroides de diferentes especies. Estas inmunoglobulinas se combinarían con antígenos localizados en los receptores para la TSH o en zonas próximas, activando la adenilciclasa de la membrana, lo que causa un aumento de AMPc intracelular a partir del

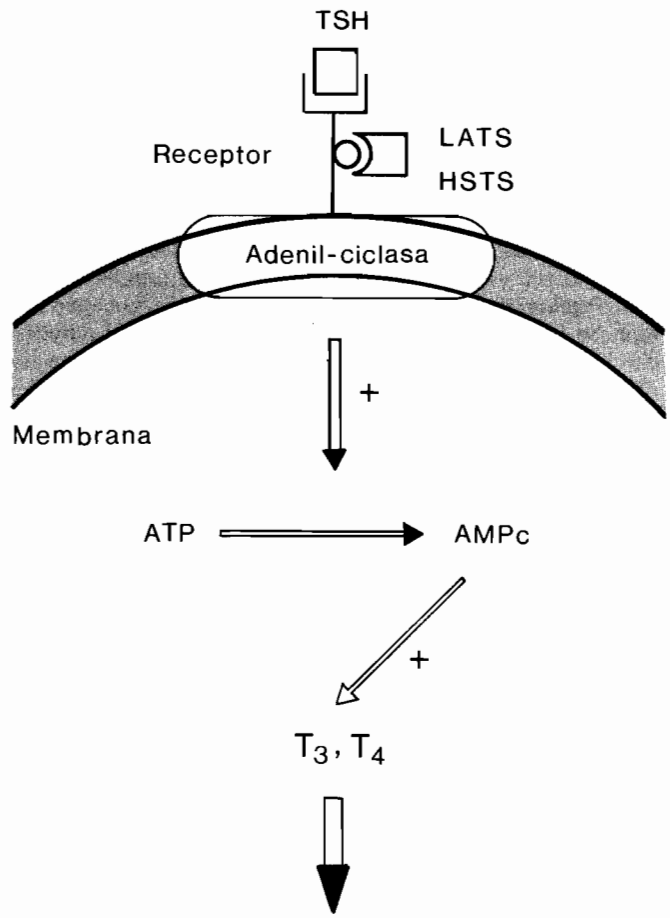


Fig. 23-11. Mecanismo de hipersensibilidad de tipo V (patogenia de la enfermedad de Graves-Basedow).

ATP y, por lo tanto, el estímulo en la secreción de hormonas tiroideas.

BIBLIOGRAFIA

Boyd, R. F., y Hoerl, B. G.: Basic Medical Microbiology. Little, Brown, Boston, 1981.
Cohen, S.; Ward, P. A., y McCluskey, R. T. (dirs.): Mechanisms of immunopathology. Wiley, New York, 1979.
Davis, B. D.; Dulbecco, H.; Eisen, H. N., y Ginsberg, H. S.: Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row. Hagerstown, 1980.
Fougereau, M., y Dausset, J.: Fourth International Congress of Immunology. Immunology 80. Progress in Immunology IV. Academic Press, London, 1980.
Fudenberg, H. H.; Stiter, D. P.; Daidewell, J. L., y Wells, J. V. (dirs.): Basic and Clinical Immunology, 3.ª ed. Lange Medical, Los Altos, 1980.
Gell, B. G. H.; Coombs, R. R. A., y Lachmann, P. J.: Clínica inmunológica, 2.ª ed. Salvat Editores, Barcelona, 1980.
Joklik, W. K.; Willett, H. P., y Amos, D. B.: Zinser Microbiology, 17.ª ed. Appleton Century Crofts, New York, 1980.
Ortega Núñez, A.: Inmunopatología, mecanismos generales. Hospital General, 17, 477-496, 1977.
Roitt, I.: Inmunología esencial, 3.ª ed. Jims, Barcelona, 1978.
Samter, M. (dir.): Immunological Diseases, 3.ª ed. Little, Brown, Boston, 1978.

Capítulo 24

Inmunidad en las infecciones. Vacunas y sueros

Agustín Pumarola

INMUNIDAD EN LAS INFECCIONES

La interpretación de la inmunidad como un estado refractario a sufrir una enfermedad considera sólo una de las consecuencias de la inmunidad: la protección del organismo frente a la invasión por agentes biológicos. Esta interpretación en sentido restringido ha sido sancionada por el uso y da cuenta de un fenómeno de gran importancia en medicina, al que se refiere el presente capítulo.

La simple observación demuestra que determinadas enfermedades son padecidas por unas especies y no por otras. Así, el hombre es receptivo para el sarampión, pero no para la mixomatosis, y en el conejo ocurre lo inverso. Por otra parte, cuando un agente biológico se pone en contacto con un animal receptivo, el organismo pone en marcha una serie de mecanismos de defensa inespecíficos que tienden a evitar o limitar la invasión (cap. 17).

Como consecuencia de la respuesta inmunitaria, ya en el curso de la enfermedad infecciosa o en un posterior contacto con el agente causal, el organismo se defiende de forma más eficaz mediante mecanismos específicos.

La defensa antiinfecciosa depende, por consiguiente, de mecanismos inespecíficos naturales y de mecanismos específicos adquiridos. De ahí la distinción entre resistencia natural e inmunidad adquirida (tabla 24-1).

Resistencia natural

También se suele llamar inmunidad natural, aunque el término es incorrecto, o inmunidad inespecífica, denominación menos desafortunada, porque la alusión a la falta de especificidad descarta la confusión con la respuesta inmunitaria.

Tabla 24-1. Mecanismos de inmunidad en las infecciones

Resistencia natural
Ausencia de receptividad
Inmunidad natural (?)
Resistencia inespecífica
Inmunidad adquirida
Activa
Espontánea: infección o enfermedad
Artificial: vacunas
Pasiva
Espontánea: maternal
Artificial: sueros inmunes; inmunoglobulinas

La ausencia de receptividad está condicionada por muy diversos factores anatómicos y fisiológicos propios de la especie, que dependen de su información genética. Es, en definitiva, una resistencia de origen genético. Así, por ejemplo, el hombre y los primates son infectados por los poliovirus, porque en sus membranas celulares poseen receptores específicos que permiten la fijación del virus; los poliovirus, en cambio, no afectan al conejo, que no posee tales receptores en sus células.

Se ha postulado la existencia de una auténtica inmunidad natural debida a la existencia de anticuerpos naturales. Tal posibilidad es dudosa, porque estos anticuerpos parecen en general activamente adquiridos (cap. 17).

Los mecanismos de la resistencia inespecífica han sido estudiados con detalle y completamente en el capítulo 17. El conjunto de estos factores generales, tisulares, celulares y humorales se ponen en marcha con independencia del microorganismo concreto que pretende invadir al huésped.

En el animal receptivo, la resistencia inespecífica constituye la totalidad de la resistencia natural, por lo que ambos conceptos son superponibles.

La resistencia natural tiene una importancia vital para la protección del individuo, que se halla inmerso en un sistema ecológico en el que la agresión biológica es constante. Sin embargo, la experiencia obtenida con animales y seres humanos portadores de deficiencias en su sistema inmunológico ha demostrado que el desarrollo de la inmunidad adquirida es indispensable para poder llevar una supervivencia normal.

Inmunidad adquirida

La inmunidad adquirida frente a las infecciones es una consecuencia de la respuesta inmunitaria frente a las sustancias antigénicas presentes en los microorganismos.

Los elementos efectores son específicos: anticuerpos en el caso de la respuesta humoral y linfocitos sensibilizados en la respuesta celular. Pero, en ambos casos, el resultado final depende en gran parte de la actuación de factores inespecíficos (fagocitos, complemento, linfoquinas). La inmunidad antiinfecciosa representa fundamentalmente un

incremento de la eficacia de los mecanismos inespecíficos de resistencia.

Papel de los anticuerpos

Los anticuerpos detectados en las pruebas serológicas habituales de diagnóstico no guardan ninguna relación con el grado de protección conferida. Unicamente, las pruebas de neutralización y protección reflejan la existencia de inmunidad, por cuanto detectan anticuerpos realmente protectores.

Los anticuerpos por sí solos tienen un destacado papel en la defensa contra la infección, que, sin embargo, se limita a:

1. Neutralización de las exotoxinas bacterianas. Las antitoxinas son protectoras porque en su unión con la toxina bloquean su actividad biológica.
2. Neutralización de los virus. Al combinarse con los antígenos superficiales impiden la fijación de los virus a los receptores específicos celulares y, en consecuencia, su penetración y multiplicación. Los anticuerpos localmente secretados, de tipo IgA, son muy importantes en la prevención de las virosis respiratorias, y en las infecciones sistémicas los anticuerpos séricos tienen un intenso efecto protector.

Es mucho más importante la actuación de los anticuerpos a través de la activación de factores inespecíficos, en particular el sistema complemento y la fagocitosis. Así, los anticuerpos intervienen:

1. En la lisis bacteriana por la acción de la secuencia completa del complemento.
2. Incrementando la fagocitosis (anticuerpos opsonizantes). Las IgG son opsonizantes por sí mismas y las IgM lo son a través de la fijación del complemento. El poder opsonizante de las IgG se incrementa si se fija el complemento. La fagocitosis aumenta también por el fenómeno de inmunoadherencia, mediado por el complemento.
3. La fijación del complemento por los inmunocomplejos libera factores quimiotácticos y anafilotoxinas, que favorecen la inflamación y redundan en un mayor aporte de factores humorales y fagocitos al foco.
4. Probablemente los anticuerpos de tipo IgE intervienen, a través de fenómenos de hipersensibilidad inmediata, en la defensa de las infestaciones por helmintos.

Papel de la inmunidad de base celular

En las infecciones por microorganismos capaces de multiplicarse activamente en el interior de los macrófagos (*Mycobacterium, Listeria, Brucella, Toxoplasma,* poxvirus, herpesvirus), la inmunidad es exclusivamente de base celular, sin que los anticuerpos que puedan aparecer tengan ninguna intervención protectora.

Aunque es posible que las células específicas sensibilizadas (linfocitos T citotóxicos) tengan una acción directa, parece que la inmunidad es el resultado de la actuación de los macrófagos. Los macrófagos, «activados» por la liberación de sustancias solubles en el curso de la estimulación blástica, muestran una capacidad aumentada de destrucción de los microorganismos intracelulares; el efecto no es específico y se muestra tanto frente a los responsables de la respuesta inmunitaria celular como frente a otros de similar hábitat intracelular.

Tipos de inmunidad adquirida

De acuerdo con la forma de adquisición, la inmunidad puede ser activa o pasiva. En la inmunidad activa, el propio sujeto ha desarrollado la respuesta inmunitaria, mientras que en la pasiva ha recibido la protección por transferencia de anticuerpos fabricados activamente por otro animal o individuo. Se sabe que la respuesta inmunitaria de base celular también puede transferirse pasivamente por células linfoides, pero esta circunstancia experimental no se da en condiciones naturales ni tiene aplicación práctica; por este motivo, cuando se habla de inmunidad pasiva, se refiere exclusivamente a la respuesta humoral.

Inmunidad activa. Se adquiere espontáneamente al sufrir una determinada enfermedad infecciosa. Pero igualmente se obtiene tras infecciones que no llegan a dar síntomas clínicos (infecciones subclínicas o inaparentes). Esta eventualidad es muy frecuente en muchas enfermedades; así, la mayoría de la población es inmune a la poliomielitis por infecciones inaparentes en el curso de la vida.

La inmunidad que confiere el sufrir una infección es muy variable según el agente causal. Determinadas enfermedades van seguidas de una inmunidad muy duradera, responsable de que, en general, no se vuelva a padecer (viruela). Otras, en cambio, dejan una inmunidad muy transitoria (gripe) o nula (muchas enfermedades bacterianas como la blenorragia o las estafilococias).

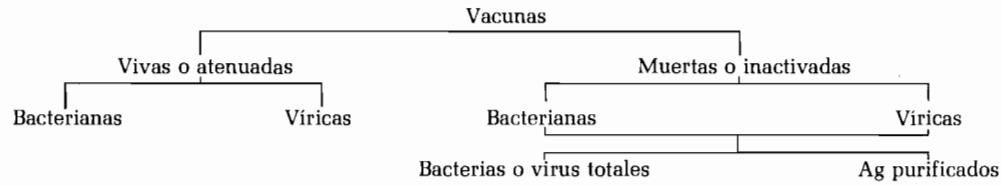
Uno de los más trascendentales avances de la medicina ha sido el conocimiento de que la inmunidad activa se puede crear también artificialmente mediante la administración de vacunas.

Inmunidad pasiva. El recién nacido posee una inmunidad pasiva de origen materno, de mayor o menor grado según cual fuere el estado inmunitario de la madre. Esta inmunidad espontánea se debe al paso placentario de anticuerpos y a su absorción por el recién nacido a partir del calostro o leche materna. La adquisición de anticuerpos maternos por una u otra vía (o por ambas) depende del tipo de placentación de cada especie animal. En el hombre, cuya placentación es hemocorial, el recién nacido recibe casi exclusivamente anticuerpos (IgG) por vía placentaria.

Los anticuerpos de origen materno desaparecen según una curva exponencial y prácticamente no son detectables a los 3 meses del nacimiento, lo que representa que la protección pasiva conferida por la madre cubre únicamente alrededor de los primeros meses; sin embargo, el hecho es trascendente porque el recién nacido comienza a fabricar sus propios anticuerpos en las primeras semanas. El descenso de las Ig pasivas se ve pronto compensado, en parte, con el ascenso de las propias. La inmunidad de origen materno es la responsable de que los niños menores de 3 meses sufran rara vez enfermedades. Permite, por otra parte, no iniciar las vacunaciones recomendables en la infancia hasta dicha edad, en la que el sistema inmunológico está mejor dotado que en el momento del nacimiento.

La inmunidad pasiva se puede conferir artificialmente mediante la administración de anticuerpos fabricados

Tabla 24-2.



en animales o procedentes de otros seres humanos que han sufrido la enfermedad o fueron vacunados. Este es el fundamento de la utilización de los sueros y de las inmunoglobulinas.

VACUNAS

Las vacunas son preparados antigénicos obtenidos a partir de microorganismos u otros agentes infecciosos, que inducen una inmunidad adquirida activa frente a determinadas enfermedades infecciosas, con un mínimo de riesgos y de reacciones locales y generales.

El término vacuna deriva de la palabra latina *vacca*, que se empleó por primera vez para designar la linfa de la viruela bovina o viruela vacuna, utilizada por Jenner para la inmunización frente a la viruela humana y que más tarde por extensión se ha aplicado a todos los productos empleados para la inmunización activa.

La aplicación de vacunas en la prevención de las enfermedades infecciosas ha constituido uno de los éxitos mayores en la historia de la medicina, no sólo porque es uno de los métodos más eficaces a nivel individual, sino porque, además, ha permitido el control y la casi desaparición de enfermedades que representaban un grave problema sanitario (difteria, poliomielitis), así como la erradicación de una de las infecciones más importantes, la viruela.

Clasificación

Las dos grandes propiedades que deben reunir las vacunas son la eficacia y la inocuidad.

La *eficacia* depende de que la vacuna contenga los antígenos responsables del poder inmunógeno, que son aquellos que inducen una buena respuesta inmune. Las bacterias y los virus están compuestos por numerosos antígenos, que pueden ser constitutivos o estructurales, contenidos en determinadas estructuras de la bacteria (flagelos, fimbrias, cápsula, pared celular, membrana citoplásmica, ribosomas) o secretados (exotoxinas y exofermentos), de los cuales sólo algunos pueden considerarse antígenos protectores o inmunizantes. Se encuentran por lo general en la superficie de la bacteria o del virión y, aunque algunos han podido aislarse y caracterizarse, poco se conoce de los restantes. La *inocuidad* supone que la vacuna está desprovista de poder patógeno, y debe lograrse este objetivo sin que se modifiquen los antígenos responsables del poder inmunógeno.

Las vacunas se clasifican en dos grandes grupos (tabla 24-2): vacunas vivas o atenuadas y muertas o inactivadas y cada una, a su vez, en vacunas bacterianas y víricas. Pero además, las vacunas inactivadas pueden dividirse en vacunas con bacterias o virus totales y vacunas con antígenos purificados (tabla 24-3). Estas últimas pueden prepararse a partir de antígenos secretados modificados, como las anatoxinas o toxoides (vacunas antitóxicas), o de antígenos constitutivos de las bacterias (polisacáridos capsulares, proteínas y lipopolisacáridos de la pared celular, fimbrias, extractos ribosómicos) o de los virus (subunidades del virión).

Vacunas atenuadas

En las vacunas vivas, el principal problema que se plantea es el de su inocuidad, es decir, que la vacuna no dé lugar a una enfermedad en los vacunados, y el ideal es la producción de una infección inaparente. Se consigue mediante la selección de mutantes atenuadas que sean estables, presenten una capacidad de transmisión natural reducida y no estén contaminadas.

Selección de mutantes avirulentas

En el curso de la reproducción bacteriana o replicación vírica se producen mutaciones espontáneas caracterizadas por su escasa frecuencia (1×10^{-8}), que pueden afectar diversos caracteres, entre ellos la virulencia. Las vacunas con mutantes atenuadas son numerosas y durante mucho tiempo se han obtenido:

Por métodos empíricos. Se basan en que la conservación de una bacteria o virus por pases en un nuevo medio o huésped tiende a seleccionar mutantes más adaptadas al crecimiento en el nuevo medio que en el antiguo (hombre), algunas de las cuales pueden presentar diversos grados de atenuación o ser avirulentas. En general se han seleccionado mutantes avirulentas por pases en animales y en medios de cultivo diversos.

Pases en animales. El virus rábico virulento o «virus de la calle» por inoculación seriada en conejos por vía intracerebral se convierte en «virus fijo», virus que ha perdido su virulencia para el hombre cuando se inocula por vía subcutánea, lo que se ha utilizado durante mucho tiempo para la

Tabla 24-3. Antígenos purificados

a) Ag secretados: exotoxinas modificadas (anatoxinas o toxoides)
b) Ag constitutivos de
Bacterias
Polisacáridos
Proteínas
Lipopolisacáridos
Extractos ribosómicos
Virus
Subunidades del virión (hemaglutinina, hexón)

vacunación humana. En la actualidad, el mismo virus fijo, desarrollado en diferentes medios (cerebro de ratón lactante, huevo embrionado de pato y células diploides) e inactivado sigue constituyendo la base de la vacunación antirrábica humana.

Por otra parte, por pases en huevos embrionados se han obtenido las cepas atenuadas Flury de virus rábico, que se utilizan para la vacunación de los animales.

Pases en medios de cultivo. Durante la época de Pasteur, por cultivos seriados y sometiendo las bacterias a condiciones desfavorables (temperatura, desecación) se obtuvieron las primeras vacunas animales, como las vacunas del carbunco y del cólera de las gallinas; más tarde por cultivo de bacilos tuberculosos bovinos en presencia de bilis de buey (patata glicerinada y biliada), Calmette y Guerin aislaron, después de numerosos pases, la cepa BCG, que en la actualidad es una de las pocas vacunas bacterianas vivas que se aplican al hombre.

En el campo de los virus, por pases seriados en cultivos celulares se han aislado mutantes atenuadas de los virus de la poliomielitis (cepas Sabin), del sarampión (Schwarz), rubeola (RA27/3), parotiditis (Jeryl Linn), fiebre amarilla (D17) y más recientemente del virus de la varicela (cepa Oka) y de la hepatitis A.

Por otra parte, también se ha utilizado la administración de *virus relacionados antigénicamente*, como el virus de la viruela bovina (*cow-pox*) para la prevención de la viruela humana, rotavirus animales, y aun de *virus no atenuados* cuando se utiliza una vía diferente de la natural, como la administración de adenovirus por vía oral.

Por manipulación genética. Los avances efectuados en la actualidad en el campo de la genética, mediante el empleo de métodos de modificación o cirugía del genoma (mutagénesis química, deleción de un fragmento por endonucleasas de restricción, recombinación genética), han permitido obtener mutantes avirulentas viables con mayor facilidad, por modificación o pérdida de alguno de los factores responsables de la virulencia (adherencia, multiplicación, tropismos, producción de toxinas). Entre las bacterias se han obtenido mutantes atenuadas por pérdida de la capacidad de multiplicación en el organismo, en especial mutantes bioquímicas defectivas, mutantes estreptomicinodependientes, mutantes termosensibles e incluso híbridos por recombinación genética de diversas bacterias entéricas (*S. typhi, Shigella, V. cholerae*). Entre los virus (virus de la gripe, virus RS), presentan especial interés las mutantes letales condicionales, sobre todo las mutantes sensibles a la temperatura (mutantes «ts»), que sólo son capaces de multiplicarse en los límites más bajos (28-32 °C) de las temperaturas normales de crecimiento (28-37 °C), y las mutantes adaptadas al frío, o mutantes «ca», que sólo se desarrollan a temperaturas subnormales (25 °C), pues en estas condiciones son capaces de multiplicarse en la mucosa rinofaríngea (32-34 °C) e incapaces de hacerlo en el parénquima pulmonar (37 °C). Por estos métodos se pueden llegar a obtener mutantes de primer pase que deben someterse a nuevos ciclos de mutación y selección, hasta conseguir una cepa atenuada y estable que pueda utilizarse para la vacunación humana. En los virus que presentan un genoma segmentado, como el virus de la gripe, se pueden obtener cepas atenuadas por métodos de transferencia o de reagrupación de genes, ya transfiriendo los genes responsables de la atenuación («ts» o «ca») a una cepa virulenta portadora de los antígenos superficiales (HA y NA) deseados o mediante la obtención previa de una cepa atenuada por pases seriados en un huésped no natural, como el huevo embrionado (mutantes «hs») y, en una segunda fase, transfiriendo a ella los genes que codifican los antígenos responsables de la virulencia de la cepa deseada.

Estabilidad de la mutante

Se debe asegurar que la mutante sea estable y no pueda recuperar total o parcialmente la virulencia en el curso de su multiplicación en el organismo, lo que exige la práctica de controles muy rigurosos en los huéspedes más sensibles y durante largo tiempo. Los poliovirus se ensayan por vía intrarraquídea en el mono, que son la vía y el animal más sensibles.

Disminución de la capacidad de transmisión natural

Es importante para evitar la infección de la gestante y la posibilidad de reversión a la virulencia por pases repetidos en el hombre. La experiencia actual sobre la vacuna de la poliomielitis oral hace pensar que la capacidad de transmisión natural de los poliovirus atenuados es muy escasa. El ideal es obtener una cepa avirulenta que no sea transmisible.

Contaminación de la vacuna por virus

En las vacunas víricas existe la posibilidad de la presencia de virus oncógenos animales (virus SV-40 y virus de las leucosis aviares), procedentes de los cultivos celulares utilizados para el desarrollo del virus de la vacuna. Los avances efectuados en las técnicas de detección de virus contaminantes y métodos de selección de células no contaminadas hacen que en la actualidad estos problemas no se presenten.

Vacunas muertas o inactivadas

Se preparan inactivando suspensiones de bacterias o de virus virulentos por métodos físicos o químicos. Se pueden distinguir las vacunas con bacterias o virus totales y las vacunas con antígenos purificados, ya a partir de antígenos secretados modificados, como los toxoides (vacunas antitóxicas), o con antígenos constitutivos o estructurales, de las cuales sólo las vacunas con polisacáridos capsulares constituyen una realidad.

El principal problema que plantean es su eficacia, pues proporcionan una inmunidad de menor intensidad y duración que las vacunas vivas, que se circunscribe por lo general a la respuesta humoral.

Vacunas con bacterias o virus totales

Por lo general se utilizan cuando los antígenos inmunizantes no se conocen o no se han podido aislar y purificar en cantidad. Su eficacia depende de diversos factores:

Selección de la cepa. Debe contener los antígenos inmunizantes y conservarlos en las distintas fases de prepara-

ción de la vacuna. En algunas especies se conoce la naturaleza de los principales antígenos inmunizantes, que por lo general se encuentran situados en la superficie de la bacteria, como el antígeno capsular del neumococo, el antígeno O y Vi de *S. typhi*, y los antígenos proteicos superficiales de *B. pertussis* (fase 1).

Composición. La vacuna debe contener todos los serotipos que intervienen en la acción patógena, ya que por lo general la inmunidad es tipoespecífica. Así, la vacuna de la polio debe contener los 3 tipos antigénicos, la vacuna de la tos ferina, los serotipos 1, 2 y 3, y la vacuna de la gripe, las variantes antigénicas en circulación.

Inactivación de la suspensión. Se puede efectuar por *métodos físicos*, como el calor y menos veces por rayos ultravioleta, o *químicos*, como el formol, fenol, acetona y β-propiolactona. Las sales de mercurio, como el merfén y mertiolato sódico, por su estabilidad, se utilizan como conservantes de la vacuna. Se deben practicar los oportunos controles de esterilidad para tener la seguridad de que la vacuna es inocua y no contiene bacterias o virus residuales virulentos.

Concentración de la vacuna. Debe ser la adecuada para producir un estímulo antigénico suficiente y, a ser posible, óptimo, con un mínimo de reacciones secundarias. Las suspensiones bacterianas se preparan habitualmente a concentraciones de 1.000-4.000 millones de bacterias por mililitro, pero la vacuna de la tos ferina precisa concentraciones más elevadas (15.000-20.000 millones) para alcanzar las unidades de protección requeridas. Esta condición es especialmente importante para las vacunas víricas, dado el tamaño del virión y la dificultad de obtener suspensiones concentradas y purificadas que no contengan componentes del medio. La vacuna inactivada trivalente de la poliomielitis debe contener como mínimo 3×10^7 DITC50 × ml para los tipos 1 y 3, y 1×10^7 DITC50 × ml para el tipo 2. La concentración también puede valorarse en función del antígeno inmunizante; así, la vacuna de la gripe debe contener 15 μg de hemaglutinina por dosis y cepa incluida en la vacuna.

Entre las vacunas bacterianas totales inactivadas, que se utilizan en la práctica, tenemos la vacuna de la tos ferina y la de la fiebre tifoidea, y, entre las vacunas víricas, las de la gripe, de la poliomielitis tipo Salk y de la rabia por cultivo del virus en huevo embrionado de pato [Powell], cerebro de ratón lactante (Fuenzalida) o células diploides (Wiktor y Koprowski).

Vacunas antitóxicas

Se emplean para la inmunización frente a las infecciones hipertóxicas por bacterias productoras de exotoxinas. La vacuna se prepara con toxinas modificadas desprovistas de toxicidad o toxoides, que producen una respuesta inmune de tipo humoral (antitoxinas). Son vacunas inocuas que inducen una inmunidad sólida de varios años de duración. En su preparación es importante:

Selección de una cepa toxigénica. Debe producir una gran cantidad de toxina. En *C. diphteriae*, la capacidad de producir toxina va asociada con un estado de lisogenia para el fago β.

Cultivo en un medio apropiado. El medio de cultivo debe tener una composición y características físicas adecuadas para una óptima producción de toxina, que generalmente no coincide con las necesidades para el máximo crecimiento de la bacteria.

Conversión en toxoide. Por acción del formol y del calor, la toxina pierde gradualmente su toxicidad y conserva su poder inmunógeno, fenómeno que también se produce espontáneamente, pero de forma más lenta (pérdida de la toxicidad por envejecimiento). Se considera debida al bloqueo de los grupos amino libres por el aldehído fórmico.

Purificación del toxoide. El líquido obtenido contiene, además del toxoide, una mezcla de componentes del medio de cultivo, antígenos bacterianos y productos de su metabolismo, que se deben eliminar mediante técnicas de precipitación fraccionada para evitar la aparición de reacciones tóxicas y de sensibilización.

Como los toxoides son antígenos solubles, producen un estímulo antigénico poco intenso, que se puede incrementar si se asocian con vacunas bacterianas o sustancias adyuvantes, que precipitan la toxina y la convierten en material particulado. Las vacunas diftérica y tetánica con toxoides precipitados, cuando se combinan con la vacuna de la tos ferina, producen una inmunidad intensa y duradera y son de las mejores vacunas.

Vacunas con antígenos purificados

Teniendo en cuenta que las bacterias y virus contienen numerosos antígenos constitutivos, de los cuales sólo algunos están relacionados con los fenómenos de inmunidad adquirida, es evidente que la vacuna ideal sería la preparada exclusivamente con los antígenos inmunizantes, eliminando los demás antígenos y sustancias que no sólo no intervienen en la inmunización, sino que, además, pueden interferir y ser causa de acciones secundarias. Los avances logrados en el último decenio en el campo de la inmunoquímica han permitido obtener los antígenos inmunizantes de algunas especies bacterianas con un elevado grado de pureza, lo que ha hecho posible la preparación de nuevas vacunas.

Polisacáridos. Por diversos procedimientos se han podido obtener preparados purificados de los polisacáridos capsulares del neumococo y meningococo, y se ha demostrado, además, la posibilidad de asociar diversos polisacáridos en una misma vacuna, vacunas polivalentes, ya que, al ser la inmunidad específica del serotipo, para que la vacuna sea eficaz, es fundamental que contenga la mayoría de serotipos sin que su número sea excesivo para evitar los fenómenos de interferencia o de competición antigénica. En general se incorporan todos los serotipos cuando su número es escaso, y si su número es elevado, se seleccionan aquellos que intervienen con mayor frecuencia en los procesos patológicos para el hombre.

En el neumococo, de los 83 tipos capsulares que se conocen se han seleccionado para la preparación de la vacuna

los 14 ó 23 tipos más frecuentes, que intervienen en el 80 ó 90 % de cuadros clínicos, incluidas la mayoría de neumonías, meningitis y bacteriemias. En el meningococo, de los 10 grupos serológicos, la mayoría de casos están producidos por los tres primeros (A, B y C). En la actualidad se han preparado dos vacunas, la vacuna neumocócica polivalente con el polisacárido de 14 y 23 tipos capsulares y las vacunas meningocócicas con los polisacáridos de los grupos A y C, ya en forma de vacunas monovalentes o bivalentes A + C. Se encuentran en período de ensayo la vacuna con los polisacáridos purificados de *H. influenzae* tipo b y en fase de estudio las vacunas con polisacáridos de los estreptococos del grupo B y de *E. coli* K1, de gran interés en la prevención de las meningitis neonatales.

Proteínas. Por otra parte, se encuentran también en estudio cierto número de vacunas bacterianas obtenidas a partir de antígenos proteicos de la pared celular, relacionados con la virulencia, como los antígenos tipoespecíficos del meningococo, de interés para el serogrupo B, los antígenos superficiales de *B. pertussis*, la proteína M de los estreptococos del grupo A y las proteínas de las fimbrias y de la pared celular del gonococo.

En los virus se estudian vacunas preparadas con proteínas del virión (hemaglutinina de los virus gripales, hexones de los adenovirus). La más importante es la vacuna de la hepatitis B (subunidades), preparada a partir del plasma de portadores crónicos, concentrando y purificando las partículas no infecciosas de 22 nm, que contienen el antígeno protector de superficie AgHBs.

Lipopolisacáridos. La fracción central del lipopolisacárido, compuesta por monosacáridos y KDO, que es común en la mayoría de bacterias gramnegativas, puede inducir una protección cruzada de interés para la preparación de una vacuna grupoespecífica, de acción protectora frente a los efectos de la endotoxina, que reduce la frecuencia del shock séptico en las bacteriemias y sepsis por gramnegativos.

Extractos ribosómicos. Si una suspensión bacteriana se somete a disrupción mecánica por presiones elevadas, se pueden obtener por centrifugación fraccionada extractos ribosómicos de composición no bien definida, que contienen ARN, proteínas ribosómicas y diversas proteínas contaminantes según el grado de purificación. Las vacunas ribosómicas son superiores a las inactivadas y producen cierta protección cruzada. Sin embargo, presentan problemas pendientes de solución (composición, naturaleza de la sustancia inmunógena, mecanismo de acción, confirmación de los ensayos controlados), pero representan una nueva vía de interés para aquellas infecciones en las que no existen vacunas eficaces.

Perspectivas futuras. Los avances realizados en biología molecular han permitido explorar la posibilidad de obtener antígenos purificados en gran cantidad por síntesis peptídica o por la metodología del ADN recombinante (ingeniería genética).

La síntesis peptídica se basa en identificar, en la proteína que constituye el antígeno protector, el fragmento o epítope que se combina específicamente con los anticuerpos neutralizantes, con el fin de determinar su secuencia peptídica y proceder a la síntesis de dicho péptido, que conjugado con un portador sintético constituirá el antígeno. En el segundo método, una vez conocido el fragmento del ADN que codifica el antígeno protector, se puede incorporar a un plásmido que, introducido a su vez en una bacteria (*E. coli*), levadura (*Sacharomyces*) o células de línea continua (mono, ratón, etc.), lo sintetizará en gran cantidad en el curso de su desarrollo. Por este mecanismo se ha podido obtener el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, la hemaglutinina del virus de la gripe, la glicoproteína de superficie del virus rábico, etc.

Sustancias adyuvantes o inmunoestimulantes

Las vacunas inactivadas proporcionan una inmunidad de menor intensidad y duración que las vacunas vivas y, además, circunscrita a la respuesta humoral. Por este motivo, a medida que se estudian nuevas vacunas inactivadas y se amplía el campo de las vacunas con antígenos purificados, cada vez se hace más necesario obtener una buena respuesta inmune, lo que puede lograrse por la adición a la vacuna de sustancias adyuvantes o estimulantes de la inmunidad. El uso de estas sustancias, frecuente en veterinaria, se ha limitado en medicina como consecuencia de los problemas que presentan su tolerancia e inocuidad. Se han utilizado:

Sales minerales. La más importante es el hidróxido de aluminio, que transforma los antígenos solubles en insolubles o particulados, retarda su absorción e incrementa el estímulo antigénico; se utiliza para la preparación de vacunas antitóxicas (toxoides precipitados) y microbianas (tos ferina, gripe). También se pueden emplear el fosfato y sulfato de aluminio y el fosfato cálcico.

Sustancias oleosas. Se emplean aceites minerales, generalmente asociados con sustancias tensioactivas (Tween 80, Arlacel A), que forman una emulsión con las vacunas de base acuosa (adyuvante incompleto de Freund). Como estas sustancias no se absorben ni metabolizan en el organismo, producen una intensa respuesta humoral. Por otra parte, al no ser bien toleradas y considerarse potencialmente cancerígenas, no se ha permitido su empleo en vacunación humana.

Se puede incrementar su acción mediante la adición de bacilos tuberculosos inactivados, de sus paredes celulares o ceras cloroformosolubles (adyuvante completo de Freund), que, al provocar un gran aflujo de células inmunocompetentes, incrementa la respuesta inmune tanto humoral como celular, pero presenta el inconveniente de su acción sensibilizante (fenómenos de hipersensibilidad retardada) y a veces cancerígena, por lo que se ha prohibido en el hombre.

Recientemente se han estudiado adyuvantes metabolizables que no presentaran estos inconvenientes. El más conocido es el *adyuvante 65* de Hilleman, compuesto por aceite de cacahuete asociado con emulsionantes (oleato de isomannide) y un estabilizante (monoestearato de aluminio), que se ha empleado en algunas vacunas gripales, pues demuestra buena tolerancia o incrementa la respuesta humoral. La incorporación del antígeno en vesículas de lípidos sintéticos (liposomas) permite liberarlo muy lentamente.

Compuestos bacterianos. También se han utilizado como adyuvantes bacterias totales o compuestos de la pared celular:

1. Las endotoxinas o lipopolisacáridos de las bacterias gramnegativas presentan una acción adyuvante debida al lípido A que incrementa la respuesta humoral, especialmente en IgM. Por su acción pirógena no se aconseja su empleo en el hombre.

2. El peptidoglicano de la pared celular de algunas bacterias gramnegativas se ha empleado recientemente con buenos resultados; también se estudia el empleo de derivados sintéticos, como el muramil-dipéptido.

3. Las suspensiones de *Bordetella pertussis* producen una acción estimulante sobre la respuesta humoral (especialmente de las IgG) y en la vacuna triple bacteriana o DTP incrementan la respuesta inmune a los toxoides. Lo mismo ocurre con las suspensiones de algunos *Corynebacterium* anaerobios, como *C. parvum*, que, además, se emplean en el tratamiento de enfermedades tumorales.

4. Las suspensiones de *BCG* estimulan fundamentalmente la inmunidad celular, producen una activación de los macrófagos del SRE y se ha considerado su asociación con otras vacunas como estimulantes de la inmunidad antiinfecciosa y por su acción antitumoral en el tratamiento y profilaxis del cáncer.

Composición de las vacunas

Atendiendo a su composición, las vacunas se pueden dividir en:

Vacunas monovalentes. Cuando la especie presenta una composición antigénica homogénea (especies monotípicas), la vacuna se prepara a partir de una sola cepa de la especie, como las vacunas del sarampión, rubéola, parotiditis y fiebre tifoidea.

Vacunas polivalentes. Cuando la especie es heterogénea y está compuesta por diversos tipos antigénicos que no presentan inmunidad cruzada, la vacuna debe contener todos los serotipos o la mayoría de ellos, que intervienen en la producción de la enfermedad, como la vacuna gripal bivalente que contiene las variantes antigénicas de los tipos A y B que predominan en aquel momento, la vacuna de la poliomielitis trivalente y la neumocócica tetradecavalente.

Vacunas combinadas. Asocian en un mismo preparado productos inmunizantes de diversas especies, ya sean: *a) suspensiones bacterianas totales* (vacuna TAB, poco utilizada y compuesta por suspensiones inactivadas de *S. typhi, S. paratyphi A* y *S. paratyphi B*) o víricas (vacuna triple vírica compuesta por virus atenuados del sarampión, rubéola y parotiditis); *b) toxoides*, como la vacuna DT infantil que contiene toxoide diftérico y tetánico, o la vacuna Td tipo adulto cuando la dosis de toxoide diftérico es menor para reducir las reacciones en los adultos, y c) *toxoides* con *suspensiones bacterianas totales*, como la vacuna triple bacteriana o DTP, compuesta por toxoide diftérico, tetánico y una suspensión inactivada de *B. pertussis*.

La asociación de diversos antígenos en una vacuna no permite predecir su resultado, sino que deben estudiarse en cada caso, para evitar los fenómenos de interferencia o de competición antigénica.

Por otra parte, atendiendo a su estado físico, las vacunas se pueden dividir en: *vacunas de base acuosa* o *líquidas*, como las vacunas de la poliomielitis, fiebre tifoidea y gripe, *vacunas precipitadas*, generalmente por la adición de hidróxido de aluminio, que incrementan el estímulo antigénico (toxoide tetánico y diftérico, vacuna de la tos ferina), y *vacunas liofilizadas* que alargan el plazo de validez y facilitan su transporte y conservación en condiciones de viabilidad, como en las vacunas víricas atenuadas (sarampión, rubéola, parotiditis, viruela, fiebre amarilla) y la vacuna bacteriana BCG.

Conservación, transporte y período de validez

La eficacia de la vacunación depende no sólo de la calidad de la vacuna, sino, además, de que se conserve y transporte en condiciones adecuadas y se administre durante el período de validez.

En general, todas las vacunas deben conservarse en el frigorífico (2-10 °C) y pueden transportarse a temperatura ambiente (< 22 °C) durante corto tiempo. Las vacunas atenuadas deben conservarse en condiciones más estrictas y el período de validez es corto. Las más lábiles, como las vacunas del sarampión, rubéola, parotiditis y fiebre amarilla, que se preparan liofilizadas, una vez reconstituidas, deben administrarse inmediatamente.

Controles

Las vacunas deben someterse a un *control de calidad*, que asegure el cumplimiento de los estándares internacio-

Tabla 24-4. Vacunas (principales vacunas para la inmunización humana)

		Vacunas inactivadas		
			Antígenos purificados	
	Vacunas atenuadas	Totales	Anatoxinas	Antígenos constitutivos
Bacterianas	BCG	Fiebre tifoidea	Tétanos	*Polisacáridos* Vacuna neumocócica polivalente
		Tos ferina	Difteria	Vacuna meningocócica (grupos A y C)
Víricas	Poliomielitis oral (Sabin) Sarampión Rubéola Parotiditis Fiebre amarilla Viruela	Poliomielitis (Salk) Gripe Rabia		*Proteínas* Vacuna de la hepatitis B (AgHBs)

nales en cuanto a eficacia y seguridad, ya que una vacuna poco segura o mal tolerada es un peligro y una vacuna poco eficaz, una molestia. El control de calidad se realiza en el laboratorio preparador y sobre todo en centros oficiales. El número y naturaleza de las pruebas de inocuidad y protección, a que debe ser sometida una vacuna, hacen que sólo los centros mejor equipados estén en condiciones de llevar a cabo dicho control. Basta mencionar que los controles a que se somete la vacuna de la poliomielitis atenuada antes de su empleo son mucho más numerosos y complejos que la preparación de la propia vacuna.

Las principales vacunas para la inmunización humana se relacionan en la tabla 24-4.

VACUNACION

La vacunación, o administración de vacunas, tiene por objeto producir una inmunidad adquirida activa que confiera un grado de protección elevado frente a una enfermedad infecciosa determinada.

En la vacunación es necesario tener en cuenta una serie de factores referentes a la propia vacuna y al sujeto que hay que vacunar. Los más importantes son:

Edad

La edad para iniciar la vacunación depende fundamentalmente del momento a partir del cual el niño es susceptible a las distintas enfermedades infecciosas (período de receptividad) y es capaz de desarrollar una buena respuesta inmune, lo que a su vez está en relación con la maduración del sistema inmune y la persistencia de anticuerpos pasivos de origen materno. También hay que tener en cuenta la época en que se presentan complicaciones con menor frecuencia.

Durante mucho tiempo se consideró que la capacidad de respuesta del sistema inmune del recién nacido era muy pobre y que no alcanzaba su madurez hasta el segundo semestre de la vida. Sin embargo, hoy se conoce que, en el recién nacido, la respuesta inmune de tipo celular es probablemente normal y la respuesta humoral para las IgM se inicia ya con el nacimiento y para las IgG, después del primer mes, y alcanza el máximo a partir de los 3-4 meses.

Por otra parte, el niño nace con una inmunidad pasiva de origen materno, compuesta por anticuerpos séricos (IgG), que atraviesan la placenta, llegan a la sangre y persisten durante algunos meses, y por anticuerpos locales (IgA), que por el calostro y leche materna llegan al tubo digestivo, el cual pueden proteger frente a las infecciones intestinales durante el período de lactancia materna.

La protección conferida por los anticuerpos pasivos maternos (IgG) varía según las infecciones: es prácticamente nula para la tos ferina, pues los anticuerpos que llegan a la sangre no protegen la mucosa respiratoria, de corta duración para la poliomielitis (3-6 meses) y de mayor duración (8-15 meses) para el sarampión, rubéola y parotiditis.

Los anticuerpos maternos pueden interferir en la respuesta o disminuirla cuando se administran vacunas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, aun en aquellos casos en que debido al título de anticuerpos maternos se inhibe la respuesta humoral, la administración posterior de una segunda dosis de vacuna produce una clara respuesta secundaria.

En consecuencia, se aconseja vacunar lo más precozmente posible, durante el 3.er mes de vida frente a la difteria, tétanos, tos ferina y poliomielitis y a partir de los 12 meses frente al sarampión, rubéola y parotiditis. Para la prevención de la tuberculosis y viruela, que dependen de factores de inmunidad celular, se puede practicar la vacunación a partir del nacimiento.

Dosis y pauta de administración

Para las vacunas atenuadas, que se multiplican en el organismo, en principio basta la administración de una sola dosis para producir una intensa respuesta inmune, parecida a la infección natural (BCG, sarampión, rubéola, parotiditis, fiebre amarilla), salvo en aquellos casos de administración por una vía natural en que la vacuna puede no prender por fenómenos de interferencia, como puede ocurrir en la mucosa intestinal entre la vacuna de la poliomielitis oral y otros enterovirus, que obligan a administrar varias dosis para evitar estos fenómenos.

Por el contrario, para las vacunas inactivadas se deben administrar varias dosis separadas por intervalos adecuados para que se produzca una buena respuesta secundaria, pero, además, es necesario mantener e incrementar dicha inmunidad por medio de dosis de refuerzo (generalmente al cabo de 1 año) y las oportunas dosis de recuerdo o revacunaciones, a diferentes intervalos que dependen del tipo de vacuna y de las características epidemiológicas de la enfermedad que se desea prevenir.

Vía de administración

Las vacunas atenuadas pueden administrarse por una vía natural, como la vacuna de la poliomielitis que se administra por vía oral, pero también por escarificación (viruela), vía intradérmica (BCG) o subcutánea (fiebre amarilla, sarampión, rubéola, parotiditis). Las vacunas inactivadas o con antígenos purificados se administran por vía subcutánea o también intramuscular para evitar reacciones secundarias (toxoides, vacuna de la gripe y de la fiebre tifoidea, vacuna con polisacáridos purificados). Cuando las circunstancias epidemiológicas lo requieran, puede efectuarse la vacunación en masa de la población, mediante el inyector a presión o *jet injector*, dispositivo que facilita el paso de la vacuna por presión a través de la piel y permite vacunar con gran rapidez (500 personas por hora).

Reacciones secundarias

En el curso de la vacunación pueden producirse reacciones locales o generales, casi siempre benignas, debidas de ordinario a la toxicidad de los antígenos (vacunas del cólera, fiebre tifoidea y gripe), y complicaciones, algunas de cierta gravedad debidas a la vacuna o a factores de riesgo existentes en el huésped, que se pueden evitar si se respetan las contraindicaciones.

Contraindicaciones

Las vacunas están contraindicadas:

1. Cuando su administración pueda representar un riesgo, como en el caso de:

a) Enfermedades infecciosas febriles (contraindicación general).
b) Trastornos neurológicos evolutivos (vacuna de la tos ferina y fiebre amarilla).
c) Deficiencias inmunitarias congénitas o adquiridas (vacunas atenuadas).
d) Reacciones de hipersensibilidad a los componentes de la vacuna (albúmina de huevo, antibióticos, antisépticos).
e) Embarazo (vacunas atenuadas y vacunas inactivadas reactógenas).

2. Cuando se puede interferir la respuesta inmune debido a la presencia de anticuerpos en el individuo vacunado, como ocurre:

a) En la inmunización de los menores de 1 año, con las vacunas del sarampión, rubéola y parotiditis.
b) En los pacientes tratados con plasma, transfusiones o inmunoglobulinas. En estos casos se aconseja demorar la vacunación como mínimo 3 meses con vacunas atenuadas y 3 semanas con vacunas inactivadas. También hay que tener en cuenta que después de aplicar vacunas atenuadas no deben administrarse inmunoglobulinas durante 15 días, para no interferir con la vacunación.

Eficacia de la vacunación

Las vacunas producen una inmunidad adquirida activa, que, a diferencia de la inmunidad pasiva por administración de sueros, se instaura después de un período de latencia y es más intensa y duradera. Por estas características, la vacunación se utiliza para la prevención a largo plazo de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, su eficacia varía según el tipo de vacuna, su composición y la localización de la infección que se quiere prevenir.

Tipo de vacuna. Hay que tener en cuenta que las vacunas atenuadas estimulan tanto la inmunidad de tipo humoral como celular, mientras que las vacunas inactivadas inducen fundamentalmente una respuesta humoral.

Vacunas atenuadas. Como las bacterias o virus se multiplican en el individuo vacunado, se produce un aumento progresivo y exponencial de la masa antigénica que induce una respuesta inmune óptima, primaria y secundaria, y tanto de tipo humoral, por anticuerpos séricos (IgG) y locales (IgA secretora), como de tipo celular, que deja una inmunidad intensa y de larga duración, semejante, aunque algo inferior, a la infección natural.

Por este motivo en la primovacunación basta administrar una sola dosis que debe ser suficiente para iniciar la multiplicación, y sólo deben administrarse inyecciones de recuerdo cuando debido a la escasa difusión del virus no se producen reinfecciones. En consecuencia, las vacunas atenuadas son eficaces para la prevención de la mayoría de infecciones, pero especialmente de aquellas en que predominan los factores celulares, como en las infecciones bacterianas subagudas y crónicas (brucelosis, tuberculosis) y algunas virosis (varicela, herpes, sarampión).

Vacunas inactivadas. En las vacunas inactivadas con antígenos proteicos, como las vacunas totales y con toxoides, la respuesta es fundamentalmente de tipo humoral (IgG), y como el antígeno no se multiplica en los tejidos, requieren la administración de varias dosis en la primovacunación para producir una intensa respuesta secundaria, generalmente de 2-4 dosis separadas por 1-2 meses de intervalo, y las oportunas dosis de recuerdo. Con antígenos polisacáridos, la respuesta primaria es más lenta y prolongada (IgM) y frente a una segunda dosis no se produce una respuesta secundaria anamnésica adecuada. Las vacunas inactivadas se emplean cuando la inmunidad depende fundamentalmente de factores humorales, como ocurre en muchas infecciones agudas extracelulares.

Composición de la vacuna. Está en relación con la estructura antigénica de la especie.

Especie homogénea. Cuando la especie es homogénea y presenta un solo tipo antigénico (especies monotípicas), como ocurre con los virus del sarampión, rubéola, parotiditis, viruela y fiebre amarilla, *S. typhi* y *M. tuberculosis*, basta seleccionar una cepa de dicha especie.

Especie heterogénea. Cuando la especie es heterogénea y está compuesta por diversos tipos antigénicos que no presentan inmunidad cruzada o sólo parcial, deben incluirse en la vacuna todos los serotipos (vacuna de la poliomielitis) o al menos los responsables del poder patógeno (vacuna de la tos ferina, neumocócica, meningocócica) o los que se encuentran en circulación (vacuna de la gripe). Cuando el número de serotipos es elevado y todos pueden intervenir en la producción de la enfermedad, es prácticamente muy difícil preparar una vacuna, por la necesidad de que contenga suficiente masa antigénica de cada serotipo para producir una respuesta inmune eficaz (rinovirus, virus Coxsackie y ECHO, estreptococos del grupo A).

Localización de la infección. La posibilidad de inducir una inmunidad, a ser posible intensa y duradera, está en relación con la localización de la infección.

En las *infecciones generalizadas*, como el agente se multiplica primero en la puerta de entrada y posteriormente difunde por vía sanguínea antes de alcanzar los tejidos u órganos sensibles, basta la administración de una vacuna que induzca la aparición de anticuerpos séricos (IgM, IgG, IgA), los cuales neutralicen las bacterias o virus a su paso por la sangre, para que se evite la aparición de la enfermedad.

Por el contrario, en las *infecciones localizadas en las mucosas* (respiratoria y digestiva), la inmunidad se encuentra ligada a la producción de anticuerpos locales (IgA secretoras) en la superficie de la mucosa, que neutralizan las bacterias o virus en la puerta de entrada evitando la fijación y la infección.

En estos casos es más difícil obtener una buena vacuna, pues las vacunas inactivadas cuando se administran por vía parenteral producen una inmunidad local poco intensa y de corta duración (2-5 meses para la vacuna de la gripe). Una mejor inmunización se puede conseguir por la administración local de vacunas inactivadas y sobre todo de vacunas vivas, que, sin embargo, en el mejor de los casos persiste poco tiempo (1-3 años).

Vacunaciones simultáneas

Los estudios experimentales y la experiencia adquirida permiten indicar que la administración simultánea de dos o más vacunas no modifica en general la eficacia ni la reactividad de las vacunas, lo que representa una extraordinaria ventaja, pues permite simplificar al máximo los programas de vacunación sistemática de la infancia, con motivo de viajes internacionales y aun en casos de riesgo inminente.

Las vacunas inactivadas pueden administrarse simultáneamente en lugares distintos del organismo. Sólo en casos de vacunas reactógenas (cólera, fiebre tifoidea, gripe), que pueden acentuar las reacciones en los individuos predispuestos, se aconseja administrarlas en forma sucesiva.

Para las vacunas con virus atenuados, el Comité de Inmunización (OSPHS) señala que debe existir un intervalo de 1 mes para que no se interfiera la respuesta inmune ni se produzcan reacciones más intensas, pero que, cuando no es posible, las vacunas pueden administrarse simultáneamente en lugares distintos del organismo; incluso en la vacunación simultánea contra la fiebre amarilla y la viruela, que no se consideraba conveniente, las pruebas de campo han demostrado que se produce una inmunidad semejante a la obtenida con 1 mes de intervalo. Sin embargo, deben evitarse los intervalos de 2 a 15 días y la administración simultánea en la misma mucosa, pues es mucho más probable la aparición de interferencias. Pueden administrarse a la vez vacunas vivas y muertas. Pero la administración de vacunas víricas atenuadas con vacunas bacterianas inactivadas que contengan endotoxinas puede inhibir la respuesta debido a que las endotoxinas inducen rápidamente la producción de interferón, aunque estos fenómenos no se producen cuando se administran dos vacunas atenuadas, porque la producción de interferón es más tardía, lo que permite la replicación de los virus de la vacuna.

Calendario de vacunaciones

En la planificación de los programas de vacunación infantil, uno de los puntos más importantes consiste en definir el calendario de vacunaciones sistemáticas de la infancia, que tiene por objeto establecer un orden cronológico en las distintas vacunaciones para lograr una buena inmunización del niño frente a las distintas infecciones.

El calendario debe ser: *a) eficaz y adaptado* a las necesidades y características de la población, de forma que el orden de aplicación de las vacunas esté en relación con la epidemiología de las enfermedades infecciosas en la zona y procure establecer una secuencia o calendario que mimetice y se anticipe a lo que ocurre en la naturaleza; *b)* lo más *simplificado* posible, que reduzca al máximo el número de aplicaciones y consultas al médico, mediante el uso de vacunas combinadas y vacunaciones simultáneas; *c)* que presente un mínimo de riesgos y desventajas y un coste poco elevado, y *d)* por último que *facilite el registro y control* estadístico de las vacunaciones realizadas.

El calendario a partir del nacimiento se puede dividir en dos períodos:

1. *El período de inmunización básica*, que comprende las primovacunaciones y las dosis de refuerzo, que en general abarcan los dos primeros años de vida.

Se aconseja vacunar sistemáticamente frente a la difteria, tos ferina, tétanos, poliomielitis, sarampión, rubeola y parotiditis, y se consideran opcionales, según las circunstancias epidemiológicas, las vacunas frente a la gripe, fiebre tifoidea, tuberculosis (BCG) y meningitis. En las zonas tropicales se debe incluir, además de la DTP, aquellas que presentan una especial importancia en la zona, como la vacuna del sarampión, fiebre amarilla, poliomielitis y fiebre tifoidea.

2. *El período de mantenimiento de la inmunidad* o *de las dosis de recuerdo*, que tiene por objeto producir una respuesta inmune secundaria que permita mantener un nivel básico y continuado de protección. Se practican antes de la entrada en la escuela y posteriormente a intervalos regulares.

La escuela constituye un excelente lugar de transmisión de las enfermedades infecciosas. El elevado riesgo de infección de los escolares justifica, más que la edad, la necesidad de reforzar la inmunidad de 2 a 6 meses antes de la entrada en la escuela mediante las oportunas dosis de recuerdo de la vacuna del tétanos, la de la poliomielitis oral y eventualmente la de la difteria. Después del período escolar, a los 11 años está indicada la inmunización selectiva de las niñas con vacuna de la rubeola y la administración de dosis de recuerdo para el tétanos cada 10 años, asociadas o no con toxoide diftérico (Td tipo adulto), e incluso para la poliomielitis a los 11-14 años, para reforzar la inmunidad en el adulto.

En este período puede estar indicada la administración de algunas vacunas opcionales (gripe, fiebre tifoidea) según circunstancias epidemiológicas, así como la práctica de la reacción de la tuberculina (reacción de Mantoux), para conocer *a)* la importancia de las primoinfecciones (tasa de prevalencia) y la necesidad de establecer medidas de profilaxis (vacunación BCG para los reactores negativos y grupos de alto riesgo) o *b)* el estado inmunoalérgico de la población infantil si se había procedido a la vacunación anteriormente.

Un ejemplo de calendario utilizado en España se expone en la tabla 24-5.

En los niños que por cualquier causa inician su programa de vacunación a partir de 1 año de edad se puede seguir una pauta semejante, pero más acelerada, teniendo en cuenta que para los mayores de 6 años la vacuna DTP se debe sustituir por la Td tipo adulto (tabla 24-6).

En los adultos y personas de edad avanzada, es importante la vacunación contra la gripe, tétanos y las infecciones neumocócicas, y de manera ocasional frente a otras infecciones según circunstancias epidemiológicas (fiebre tifoidea, hepatitis B, fiebre amarilla, rabia, leptospirosis).

Tabla 24-5. Calendario de vacunaciones

Edad	Vacunas
	Período de inmunización básica
3 meses	DTP y polio oral trivalente
5 meses	DTP y polio oral trivalente
7 meses	DTP y polio oral trivalente
12-15 meses	Triple vírica (sarampión, rubeola y parotiditis)
18 meses	DTP y polio oral trivalente
	Período de las dosis de recuerdo
4-6 años	DT y polio oral trivalente
11 años	Rubeola (sólo niñas)
14-16 años	T o Td (tipo adulto)

Tabla 24-6. Calendario en niños mayores de 1 año

	Vacunas
Primera visita	DT o Td* y polio oral
A 1 mes	Triple vírica
A los 2 meses	DT o Td y polio oral
A los 3 meses	DT o Td y polio oral
A los 15 meses	DT o Td y polio oral
A los 11 años	Rubeola
A los 14-16 años	T o Td (tipo adulto)

*DT para los menores de 6 años y Td para los mayores.

SUEROS E INMUNOGLOBULINAS

La denominación de sueros incluye los preparados biológicos que contienen anticuerpos y cuya administración por vía parenteral produce una inmunidad adquirida pasiva frente a determinadas enfermedades infecciosas.

Se obtienen a partir del hombre o de un animal que ha adquirido la inmunidad, ya espontáneamente por infecciones (clínicas o inaparentes) o artificialmente por inmunización.

La administración de sueros se caracteriza en que, a diferencia de la vacunación, la inmunidad provocada es de aparición inmediata, pero menos intensa y poco duradera. Por estas características, los sueros se emplean en la prevención a corto plazo y, además, en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, especialmente en situaciones de urgencia cuando no hay tiempo suficiente para producir una inmunización activa.

Se pueden dividir en sueros de origen animal o heterólogos y sueros de origen humano u homólogos; las inmunoglobulinas son las más importantes. Los sueros a su vez pueden asociarse con las vacunas, lo cual constituye la serovacunación.

Sueros heterólogos

Son los sueros preparados por inmunización activa de animales jóvenes de gran talla, generalmente caballos, con antígenos específicos asociados con adyuvantes y siguiendo pautas determinadas para obtener un elevado título de anticuerpos (hiperinmunización). Según se obtengan por inmunización frente a microorganismos o sus exotoxinas se dividen en sueros antimicrobianos y antitóxicos (tabla 24-7).

Sueros antimicrobianos

Son sueros de animales inmunizados frente a bacterias o virus por la administración de vacunas atenuadas, inactivadas o antígenos purificados. En el pasado se han utilizado algunos sueros antimicrobianos (suero antipestoso, anticolérico, antineumocócico, antitifoide O y Vi, antivariólico), pero, aparte el suero antirrábico para la profilaxis de las mordeduras graves, estos sueros ya no se emplean.

Sueros antitóxicos

Son sueros de animales inmunizados frente a exotoxinas, por inoculación del toxoide correspondiente. Los más importantes son el suero antidiftérico, antitetánico, antibotulínico y antigangrenoso. Su actividad depende de la cantidad o título de antitoxinas por unidad de volumen y, además, de su calidad, en especial de la rapidez y firmeza de la combinación con la toxina (avidez).

Los sueros antitóxicos se aplican en la profilaxis de las infecciones hipertóxicas en individuos no vacunados de elevado riesgo y también en el tratamiento de la enfermedad ya declarada.

En este grupo se pueden incluir los sueros antiponzoñosos o antiofidio preparados frente a los venenos de serpientes, escorpiones y arañas por procedimientos semejantes. Son numerosos y difieren según la zona. En Europa se preparan sueros monovalentes y polivalentes frente a los venenos de las víboras, *Vipera aspis*, *V. berus*, *V. latasti* y *V. ammodytes*, que son los más importantes y frecuentes.

Los sueros nativos o crudos contienen, además de los anticuerpos, diversas proteínas heterólogas de caballo, con especificidad de especie, que son las responsables de la corta duración de la inmunidad y, además, pueden ocasionar accidentes de hipersensibilidad inmediata. La duración de la inmunidad depende de la rapidez de absorción del suero, que es máxima por vía intravenosa (5 horas), algo menor por vía intramuscular (10 horas) y más lenta por vía subcutánea (24 horas), y del tiempo que tarda en ser eliminado por el organismo en relación con la rapidez de formación de anticuerpos específicos frente a las proteínas del suero heterólogo, que es de 1 a 2 semanas para la primera dosis y mucho más corto para las dosis posteriores.

Los accidentes de hipersensibilidad inmediata pueden ser de varias clases: *a) shock anafiláctico*, que es un accidente excepcional (1/10.000), de ordinario mortal, y se presenta en la primera media hora después de una inyección en sujetos sensibilizados, *b)* el *fenómeno de Arthus*, reacción de hipersensibilidad local en la zona de inoculación, que aparece en las primeras 24 horas en individuos sensibilizados, y *c)* la *enfermedad del suero*, caracterizada por fiebre, urticaria, artralgias, adenopatías y albuminuria, y que se puede presentar a los 6-7 días después de la primera administración de suero o inmediatamente en las personas que reciben por segunda vez suero de la misma especie animal.

Se ha procurado evitar estos accidentes empleando en la segunda administración sueros de otra especie animal (carnero, conejo) o mejor eliminando la mayor parte de las proteínas heterólogas del suero por fraccionamiento salino (sueros purificados) o por tratamiento enzimático, que, ade-

Tabla 24-7. Sueros heterólogos

Suero	Indicación	Dosis
Antitóxicos		
Antidiftérico	Profilaxis	1.000 UI + anatoxina
	Tratamiento	20.000-100.000 UI
Antitetánico	Profilaxis	1.500 UI + anatoxina
	Tratamiento	50.000-100.000 UI
Antibotulínico	Tratamiento	40 ml, suero polivalente A + B hasta regresión de los síntomas
Antigangrenoso	Profilaxis	10 ml
	Tratamiento	15 ml (perfusión intravenosa)
Antimicrobianos		
Antirrábico	Profilaxis	40 UI/kg + vacuna

más, fragmenta las antitoxinas eliminando la mayoría de antígenos específicos de especie (sueros desespeciados), que cada vez se observan con menos frecuencia, pero no desaparecen totalmente.

Los sueros antitóxicos como consecuencia de la aparición de los antibióticos y de las inmunoglobulinas han visto muy reducido su empleo.

Sueros homólogos e inmunoglobulinas

Son sueros humanos o sus fracciones, obtenidos de personas cuyo suero contiene anticuerpos por inmunización o por haber sufrido la infección clínica o inaparente. Presentan la ventaja de no producir reacciones de hipersensibilidad y conferir una inmunidad pasiva de mayor duración, pues se administran proteínas de la misma especie.

Los sueros totales de personas inmunizadas o de convalecientes ya no se utilizan en la actualidad, pero, en cambio, han adquirido gran importancia los preparados de *inmunoglobulina* o *γ-globulina*, que son concentrados de las fracciones del suero que contienen los anticuerpos y presentan, además, la ventaja de su administración en pequeño volumen (tabla 24-8).

Las *inmunoglobulinas* se pueden preparar a partir de una mezcla de sueros de diversos individuos o de sangre placentaria, que se extraen por el método de Cohn, por fraccionamiento con alcohol en frío, que permite asegurar la ausencia del virus de la hepatitis B y obtener preparados de inmunoglobulinas 25 veces más concentrados que en el suero (165 mg/ml). Están compuestos casi exclusivamente por IgG, no contienen IgM y sólo un 1-2 % de IgA. La vida media de las inmunoglobulinas es de 24 días y se deben administrar por vía intramuscular, pues en la mayoría de preparados se forman agregados o polímeros que pueden dar lugar a reacciones febriles y cardiovasculares graves si se administran por vía intravenosa, que se consideran producidas por su acción anticomplementaria. Se está intentando obtener preparados mediante tratamiento con enzimas proteolíticas, que permitan su administración por vía intravenosa.

Se aconseja limitar su empleo a los casos bien indicados, pues su administración frecuente en personas normales puede producir en ciertos casos fenómenos de sensibilización y reacciones de tipo alérgico. Se conocen dos tipos de inmunoglobulinas:

Inmunoglobulina normal, o no específica

Se obtiene a partir de una mezcla de sueros no seleccionados de adultos normales y contiene los anticuerpos procedentes de la experiencia inmunitaria de los donantes. Está indicada en los casos de agammaglobulinemia e hipogammaglobulinemia, y para evitar o atenuar aquellas enfermedades infecciosas infantiles, en que por su difusión se encuentran anticuerpos en el suero de la mayoría de adultos, especialmente para el sarampión y hepatitis A. En los casos de exposición a la rubéola en el primer trimestre del embarazo, a la varicela en inmunodeprimidos y a la he-

Tabla 24-8. Inmunoglobulinas

	Indicaciones	Dosis	Observaciones
Ig normal (165 mg/ml)			
Inmunodeficiencias	Tratamiento	0,7 ml/kg cada 2-4 semanas	
Sarampión	Prevención	0,25 ml/kg	
	Atenuación	0,05 ml/kg	Vacunar a las 10 semanas
Hepatitis A	Prevención, exposición única	0,02-0,04 ml/kg	En adultos, dosis mayores
	Prevención, exposición continuada	0,6-0,12	Repetir a los 4-5 meses
Hepatitis B	Prevención	0,12 ml/kg	Repetir al cabo de 1 mes
Rubeola	Prevención (gestante)	20 ml	Eficacia dudosa
Varicela	Atenuación	0,6-1,2 ml/kg	Inmunodeprimidos, si no hay Ig específica
Ig específica			
Tétanos	Prevención	250-500 UI	
	Tratamiento	3.000-6.000 UI	
Rabia	Prevención	20 UI/kg	Asociar con vacuna
Varicela-zoster	Prevención	2,5-5 ml	Inmunodeprimidos
Hepatitis B	Prevención	0,06 ml/kg	Repetir al cabo de 1 mes
Vacuna	Prevención y tratamiento	0,3 ml/kg	
Tos ferina	Tratamiento	1,25-2,5 ml diarios (3 días)	Eficacia dudosa
Parotiditis	Prevención	40 ml	Eficacia dudosa
Rho (D)	Prevención, enfermedad hemolítica del recién nacido	200-300 μg	

patitis B, sólo está indicada la inmunoglobulina normal, si no se dispone de inmunoglobulinas específicas.

Inmunoglobulinas específicas

Se obtienen del suero de donantes hiperinmunizados por vía activa, a veces del suero de donantes con títulos elevados de anticuerpos o del suero de convalecientes, y contienen casi exclusivamente dichos anticuerpos a título elevado. Las más importantes son la inmunoglobulina antitetánica y antirrábica. También existe la antipertussis, antiparotiditis y, más recientemente, la antivaricela y antihepatitis B, número que se está ampliando constantemente.

Sin embargo, algunas ya no se utilizan y prácticamente han desaparecido, como la antipoliomielitis, antivacunal y antisarampión, esta última por la eficacia de la inmunoglobulina normal. Además, existen inmunoglobulinas no infecciosas como la Rho(D), que se emplea en la prevención de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad Rh, y la inmunoglobulina antialérgica en el tratamiento de las personas afectas de procesos alérgicos, que actuaría por un mecanismo no bien determinado (acción histaminopéxica, anticuerpos bloqueantes, acción supresora de las IgE).

Las inmunoglobulinas específicas poseen un elevado contenido de anticuerpos que sustituyen con ventaja los sueros heterólogos, por cuanto no provocan fenómenos de hipersensibilidad y la inmunidad pasiva que confieren es de mayor duración.

Serovacunación

El inconveniente mayor de los sueros es la corta duración de la inmunidad conferida, lo que puede subsanarse por la obtención paralela de una inmunidad activa mediante vacunación.

Se ha demostrado que es posible obtener a la vez el desarrollo de los dos tipos de inmunidad, a condición de que se inyecte primero el suero o la inmunoglobulina específica y a continuación la vacuna en un lugar distinto del organismo, de esta manera la inmunidad activa sustituye progresivamente la inmunidad pasiva que desaparece a los 15-20 días.

Se emplea en el tratamiento de la difteria, tétanos, botulismo y rabia, especialmente en los casos de mordeduras graves.

BIBLIOGRAFIA

Austrian, R.: Prevention of Pneumococcal Infection by Immunization with Capsular Polysaccharides of *S. pneumoniae*. J. Infect. Dis., 136 (Suppl.), 38, 1977.

Gold, R. R.; Lepow, M.; Goldschneider, I., y Gostschlich, E. C.: Immune response of human infants to polysaccharide vaccines of groups A and *C. N. meningitidis*. J. Infect. Dis., 136, 31, 1977.

International Symposium on Vaccination against Communicable Diseases. Symposia Series in Immunobiological Standardization. Karger, Basel 1973.

Krugman, S., y Ward, R.: Infectious Diseases of Children and Adults. C. V. Mosby, Saint Louis, 1973.

Krugman, S.: Present status of measles and rubella immunization in the United States: a medical progress report. J. Pediatr., 90, 1, 1977.

Mande, R.: Vaccinations en Pédiatrie Sociale, 2.ª ed., 254. En Mande, R.; Massé, N., y Manciaux, M. (dirs.). Flammarion, Paris, 1977.

Perkins, F. T.: La inocuidad de las vacunas. Bol. Of. Sanit. Pan., 153, 5, 1974.

Pumarola, A.: Vacunas y sueros. En Matilla, V., y cols. (dirs.): Microbiología y parasitología, 2.ª ed, 189. Amaro, Madrid, 1969.

Rey, M.: Les vaccinations antivirales courantes. Gaz. Med. France, 6, 535, 1979.

Roitt, I.: Immunologie. Mécanismes essentiels. Simep Ed., Lyon, 1975.

Ruiz Gómez, J.: Profilaxis de las enfermedades infecciosas. Fco. Méndez Oteo, México, 1974.

Sabin, A. B.: Overview and horizons in prevention of some Human Infectious Diseases by Vaccination. Am. J. Clin. Pathol., 70, 114, 1978.

Shands, J. W.: Papel de las vacunas en el tratamiento del paciente geriátrico. Geriatrics, 36, mayo, 1980.

Smith, D. H., y Peter, G.: Current and future vaccines for the prevention of bacterial diseases. Pediatr. Clin. North. Am., 19, 387, 1972.

Spiess, H.: Vacunaciones. Paz Montalvo, Madrid, 1960.

Stiehm, E. R.: Standard and Special Immune Serum globulins as Therapeutic agents. Pediatrics, 63, 301, 1979.

Tauraso, M. N.; Myers, M. G.; Nau, E. V.; O'Brien, T. C.; Spindel, S. S., y Trimmer, R. W.: Effect of Interval between inoculation of Live Smallpox and Yellow Fever Vaccines on Antigenicity in Man. J. Infect. Dis., 126, 362, 1972.

Vaccines against Viral, Rickettsial and Bacterial Diseases of Man. PAHO. WHO, Washington, 1971.

WHO: Aspects génétiques de la réponse immunitaire. Séries Rap. Tech., 462, 1968.

WHO: Adjuvants de l'immunité. Série Rap. Tech., 595, 1976.

Parte III

Fundamentos de diagnóstico, epidemiología y profilaxis

Capítulo 25

Diagnóstico de las infecciones

Gonzalo Piédrola-Angulo

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en el estudio de los síntomas y signos clínicos, así como en la demostración de la presencia de su agente productor o de la huella que éste ha dejado en su contacto con el sistema inmunocompetente del individuo. El diagnóstico clínico es en muchos casos bastante demostrativo para el médico bien avezado en recoger los datos que la historia clínica y la exploración le ofrecen, pero, aun así, este diagnóstico presuntivo deberá ser confirmado por un diagnóstico de laboratorio. Aún más, hay casos en que por la clínica sólo se puede llegar al diagnóstico sindrómico (como en las meningitis agudas, pleuritis, cistopielitis, etc.) y sólo es el laboratorio de microbiología el que puede llegar a un verdadero diagnóstico del agente causal. Por otro lado, un mismo microorganismo puede dar una gran variedad de cuadros clínicos, en una o varias localizaciones. Por todo ello, la única confirmación de un diagnóstico clínico es el diagnóstico etiológico, que ofrece el laboratorio de microbiología clínica.

Este diagnóstico será siempre lo más precoz posible, ya que un retraso puede ser perjudicial para el propio enfermo, así como para la comunidad, pues el enfermo puede ser una fuente de contagio para los que le rodean.

El número, tipo y significado clínico de los microorganismos aislados se encuentran claramente determinados por las técnicas de recolección y procesamiento de las muestras. Las técnicas del diagnóstico directo están basadas en demostrar la presencia del agente microbiano, sus productos metabólicos o compuestos antigénicos en el sujeto, sus fluidos o secreciones y excreciones; en el caso de intentar demostrar el agente microbiano será necesario su cultivo, aislamiento e identificación, y en contados casos comprobar su acción patógena experimental, para de esta manera cumplir los clásicos postulados de Koch, descritos en el capítulo 14.

Una importante limitación del laboratorio de microbiología clínica es el hecho de que el aislamiento de un agente microbiano no conlleva en todos los casos que éste sea el productor de la enfermedad en cuestión. La existencia de flora comensal y mutualista, que coloniza, pero que puede ser potencialmente patógena, y que no está en relación con el proceso actual, no es infrecuente en ciertas localizaciones. Así, la demostración de una bacteria en el líquido cefalorraquídeo, pleura o peritoneo nos hará pensar que con toda seguridad, si la toma ha sido verificada asépticamente, estará relacionada con la etiología de la meningitis, pleuritis o peritonitis respectiva. Pero en las localizaciones donde existe una colonización normal, como en la piel o vías altas respiratorias, la interpretación de los resultados es mucho más difícil, y deberá siempre recordarse cuál es la flora normal (y en muchos casos beneficiosa) allí existente, lo que se ha citado en el capítulo 13.

En este capítulo se estudian los procedimientos bacteriológicos generales, ya que los seguidos para el aislamiento de virus, hongos o parásitos son estudiados en los capítulos generales.

Petición

El vale o volante de petición, en el que se solicitan las investigaciones al laboratorio de microbiología clínica, posee una gran importancia. Teóricamente, cada petición debería suministrar al laboratorio la suficiente información para que la muestra se procesara convenientemente y se interpretaran los resultados; sin embargo, no siempre sucede así.

El vale preferiblemente debe realizarse en papel que presente varias copias, ya que éstas pueden ser necesarias con diversos fines clínicos y administrativos. Muchos laboratorios usan un mismo ejemplar para la petición y los resultados, con lo que se evitan errores en la transcripción y se ahorra tiempo de procesamiento; en este caso, el papel autocopiable es imprescindible. Las copias sirven para la comparación de cultivos repetidos, el control de las infecciones hospitalarias, las futuras investigaciones o peticiones judiciales; una copia siempre quedaría de control en el laboratorio. Si el vale de petición y el impreso de resultados no van unidos, este último precisará todas las copias antes citadas. La utilización de ordenadores en el área administrativa de los laboratorios facilita enormemente el almacenamiento y recuperación de los datos de todo tipo, ya programados.

Todo volante o vale de petición deberá poseer las cinco áreas siguientes:

1. Filiación y datos administrativos, donde se deben especificar el nombre y apellidos, sexo y edad del paciente, el médico solicitante y el centro, servicio o consulta al que pertenezca, así como cualquier otro dato de identificación, como el número de cama, de afiliación a la Seguridad Social, etc.
2. Datos clínicos como fecha del comienzo de la enfermedad, diagnóstico clínico de presunción, estado inmunitario

del paciente, etc. Todos estos datos son de gran interés para orientar las técnicas que hay que seguir.

3. Datos de la muestra, como fecha de la obtención y, en algunos casos, la hora, naturaleza del producto y exacta localización de la toma, así como si se ha realizado mediante alguna técnica especial (punción transtraqueal, vesical, etc.).

4. Terapéutica seguida: antibióticos, que se han administrado y tiempo desde la última toma o inyección. El ideal es que todas las muestras se tomaran antes de empezar un tratamiento antibiótico.

5. Area para la solicitud, indicando claramente el tipo o tipos de determinaciones que se desean, y en caso de que se desee la búsqueda de un microorganismo determinado, se reseñará éste (*M. tuberculosis, Mycoplasma,* etc.).

Muchos laboratorios añaden una sexta área, en la que se hace constar la fecha y hora de entrada de la muestra en el laboratorio, hecho que ha de tenerse en cuenta especialmente en las peticiones de urgencia, que en muchos centros poseen un vale de distinto color (p. ej., rojo) al de los normales.

Existen muchos modelos de vales, algunos de ellos con los datos preimpresos, para que sólo sea necesario marcar los correspondientes a cada caso.

Todos estos datos intentan llevar al máximo la colaboración entre el clínico y el microbiólogo, con la finalidad de que el laboratorio se convierta en un método rápido y eficaz para el diagnóstico del proceso infeccioso. Ello hoy es más necesario que nunca, cuando el clínico no puede estar al tanto de todas las modernas técnicas y sus indicaciones en cada caso, el tipo y espaciamiento de la recolección de muestras, y los medios de transporte y enriquecimiento. Por ello, el microbiólogo no puede ser un mero receptor de muestras, sino una imprescindible ayuda en el diagnóstico e interpretación de los resultados.

TOMA DE LA MUESTRA

La toma del producto que hay que investigar será realizada por el personal de las consultas o clínicas, o en el laboratorio. En el primer caso es necesario que el laboratorio, previa consulta con las áreas interesadas, elabore y proporcione unas directrices por escrito que contengan las normas de petición, recolección y transporte de las muestras para su análisis. Los principales aspectos que han de tratarse serán el tipo y volumen de espécimen necesario en cada caso, la técnica de recolección, el tipo de envase o recipiente que hay que usar, las normas de envío y transporte, y el mínimo de información requerido en cada caso y citado en el apartado anterior. Estas normas deberán seguirse por los médicos y personal de enfermería, y variarán en cada centro; sólo se cita aquí un resumen de ellas.

Hay situaciones en que es conveniente la toma junto a la cama del enfermo, como en hemocultivos y líquido cefalorraquídeo (LCR), pero en otras es imprescindible realizarla en el propio laboratorio, como en exudados genitales que requieren una observación en fresco al microscopio (chancro sifilítico, *Trichomonas*) y siembra inmediata (*Chlamydia, Ureaplasma*).

En líneas generales en toda la localización es necesario que la toma se efectúe en el sitio exacto de la lesión, que nunca se ponga en contacto con antisépticos o desinfectantes, que sea lo más precoz posible y que se prefieran siempre los productos purulentos frescos líquidos (recogidos por aspiración directa con jeringa) o tejidos sospechosos, a las muestras tomadas con hisopos o torundas con algodón.

Todas las muestras deberán ser enviadas lo más rápidamente posible al laboratorio; por desgracia es casi imposible que sean transportadas y procesadas dentro de las dos primeras horas de su recogida, con escasas e importantes excepciones (LCR en meningitis agudas), problema que se agrava en las tomas efectuadas durante la noche o desde lugares alejados geográficamente del laboratorio. La mayoría de las bacterias resisten bien las temperaturas bajas, por lo que los productos pueden mantenerse en la nevera unas horas, pero el LCR (el meningococo es muy sensible al frío), heces y muestras de anaerobios no deben ser refrigerados.

Cuando la viabilidad de las bacterias es muy escasa o la posibilidad de desecación de la muestra es grande (favoreciéndose la destrucción bacteriana) y la toma no puede realizarse en el mismo laboratorio, se usarán medios de transporte. Se trata de medios, tales como el Stuart o Amies, que no son nutritivos, sino que preservan las bacterias existentes, sobre todo si son escasas, a la vez que impiden el crecimiento exagerado de otra flora bacteriana no deseada. Estos medios existentes en el comercio pueden ser para bacterias aerobias o anaerobias, y aunque pueden conseguir supervivencias de hasta 24 horas a temperatura ambiente, deberán enviarse también lo más rápidamente posible al laboratorio.

Mención especial requiere cualquier tipo de muestras obtenidas a partir de enfermos con presumible o demostrada hepatitis vírica o SIDA, por ser infectivos no sólo el suero, sino todas las secreciones. Las muestras serán debidamente señalizadas para prevenir la posibilidad de contagio del personal; para ello, en muchos laboratorios se utilizan etiquetas de color amarillo o rojo, con el fin de hacer más visible su procedencia. En caso de transporte de estas muestras se utilizará una doble envoltura, similar a la de productos biológicos peligrosos.

Por el tipo de muestras y en relación con la toma, se deben recordar los siguientes datos:

Orina. Hay que establecer una distinción según que los pacientes sean o no portadores de sonda permanente. En los enfermos sin sonda permanente, la toma puede hacerse:

Por micción directa. Para que los resultados del urinocultivo sean valorables, es necesario que la orina del paciente permanezca al menos 4 horas en la vejiga, por lo que se recomienda recoger la primera orina de la mañana. La técnica consiste en: *a)* En los hombres se lava el meato con agua y jabón, después de retraer la piel propucial y aclarar bien con agua. La orina podrá ser recogida por el propio enfermo. Usense siempre frascos estériles con tapón de rosca y boca ancha. *b)* En las mujeres, la paciente debe colocarse en posición ginecológica y la enfermera efectuará un buen lavado del meato uretral y genitales con agua y jabón, aclarando posteriormente con agua para eliminar las bacterias contaminantes de superficie; seguidamente, la orina se recogerá por la propia enfermera. Para ello, se destapa el tubo o frasco estéril tomando el tapón por la parte no introducida en él y manteniéndolo en el aire, se invita a orinar a la paciente desechando la primera parte de la micción, se recoge «al vuelo» el chorro y se vuelve a tapar inmediatamen-

te el tubo o frasco utilizado. La recogida se efectuará con los labios mayores separados. A continuación, se efectúa el traslado de la orina al laboratorio antes de 30 minutos.

Por cateterismo. En caso de no poder obtener la muestra de orina por micción directa se realiza mediante cateterismo a cargo de personal experto y en condiciones de asepsia rigurosa, que consiste en la desinfección de genitales externos, como en la técnica anterior, uso de guantes y de sonda estéril, y traslado rápido de la orina al laboratorio. En la petición se hará constar que la orina ha sido obtenida mediante cateterismo.

Mediante bolsa de plástico comercial o punción suprapúbica. En los niños pequeños se puede utilizar la bolsa de plástico comercial que se adhiere a los genitales o la punción suprapúbica; en ambos casos se puede facilitar la micción mediante los reflejos paravertebrales.

En los enfermos con sonda permanente, la técnica consiste en pinzar la sonda durante un período de 4 horas, transcurridas las cuales se recogerá la orina directamente de la sonda (nunca de la bolsa de plástico, desechando la emisión inicial). Se hará constar específicamente en la petición que el paciente es portador de sonda permanente. Se trasladará inmediatamente la orina al laboratorio.

Para la investigación de micobacterias en orina se recoge la primera orina de la mañana durante 3 días seguidos, ya que la eliminación de bacilos es intermitente. Se hará constar en el vale de petición la determinación que se desea.

Heces. Para la realización del coprocultivo se recogen las heces en un frasco estéril o limpio, y se procura que la porción recogida contenga el pus, moco, sangre o zonas más demostrativas. En este caso, el diagnóstico de presunción es de suma importancia, para orientar la selección de medios de siembra. La toma con hisopo rectal, humedecido en agua de peptona estéril, puede ser de utilidad en disenterías y en el cólera.

En todo caso se evitará la mezcla de heces con orina y la muestra será remitida inmediatamente al laboratorio, pues la conservación en nevera durante más de 1 hora ya es perjudicial para algunas bacterias patógenas.

Aparte otros estudios (digestión, parásitos, levaduras, etc.), puede interesar un estudio bacteriológico directo, bien en fresco (observación de piocitos, células, movilidad, etc.) o bien mediante tinción de Gram, para demostrar el aumento de la flora gramnegativa o positiva, o, lo que aún tiene más valor, la ausencia de flora bacteriana o la presencia solamente de levaduras.

Los datos obtenidos de la anamnesis, sobre todo en brotes de origen alimentario, son de gran utilidad para el laboratorio al orientar las investigaciones; por ello, se indicará en todos los casos el juicio diagnóstico de presunción, si se desea algún estudio especial (*C. difficile*) y si el paciente es de menos de 1 año de edad.

El coprocultivo también puede tener gran interés para detectar la presencia de bacterias patógenas en las heces de sujetos portadores sanos.

Líquido cefalorraquídeo. Una vez realizada la punción raquídea, en la que los datos de presión y aspecto del líquido son de gran interés, se recogerá en un tubo estéril y se mantendrá a 37 °C; se procederá lo más rápidamente posible a su siembra en medios adecuados, que se encontrarán a 37 °C en la estufa, para evitar la muerte de las bacterias. Por ello, se recomienda la siembra a la cabecera del enfermo, que evita los problemas antes citados. La asepsia en ella será muy rigurosa, y se usarán guantes estériles y mascarilla, aguja estéril y desinfección de las manos y piel de la zona de la punción lumbar con povidona yodada.

Es aconsejable en muchos casos el envío simultáneo de un hemocultivo, indicando el juicio diagnóstico, pues es habitual el diagnóstico previo o concomitante de las bacterias por la sangre (meningococo, neumococo, etc.). En caso de sospecha de una etiología tuberculosa o por hongos, se reseñará en el vale de petición.

Sangre. El hemocultivo requiere una asepsia absoluta en la extracción; se desinfecta la zona de la piel situada sobre la vena que hay que puncionar, los dedos de la persona que realiza aquélla y el tapón del frasco, con tintura de yodo al 3 % o povidona yodada. Se pueden utilizar jeringa y agujas estériles o mejor de un solo uso, o dispositivos desechables que preparan las casas comerciales, formados por un tubo de plástico con dos agujas en sus extremos, una para la punción del paciente y otra para introducir la sangre en el frasco de cultivo. El buen momento de la toma es cuando la temperatura empieza a ascender, siempre que el sujeto no esté sometido a tratamiento antibiótico; en los casos en que no se puede suspender éste, se añade a los medios penicilinasa, ácido paraaminobenzoico o polietanol sódico al 0,06 %. Existen sistemas de transporte especiales, para la eliminación de antibióticos presentes en sangre por contacto con resinas, que consiguen la recuperación de bacterias que, de otro modo, no se procedería a su aislamiento.

Mediante la punción venosa se extraen 5 a 10 ml de sangre, que se inoculan directamente sobre los medios elegidos. La selección del medio es de gran importancia y en ciertos casos depende del diagnóstico clínico presuntivo. El ideal para bacterias aerobias es el caldo glucosado; en el caso de sospecha de infección por *Brucella* habrá que sembrar otro frasco más con un 10 % de anhídrido carbónico (*B. abortus*). Para anaerobios se recomienda el caldo glucosado o caldo-tioglicolato.

Los medios para practicar el hemocultivo pueden ser líquidos (caldo glucosado, caldo-bilis, etc.), sólidos (mezclando la sangre con agar fundido a 45 °C, lo que permite el recuento de bacterias y la observación de la hemólisis; son las clásicas placas de Schottmüller) o difásicos, que reúnen en el mismo frasco la fase sólida (agar) y la líquida (caldo). La incubación puede realizarse en aerobiosis o en atmósfera de un 10 % de CO_2. Las bacterias que se aíslan en el hemocultivo pueden ser de la flora saprofita de la piel o ambiental, y es necesario valorar cuidadosamente los resultados obtenidos y repetir el estudio para comprobar éstos.

La toma en ciertos casos (endocarditis, sepsis focales, etc.) puede requerir la repetición de hemocultivos, que nunca debe ser superior a tres veces, siempre y cuando se haga en el momento y con la técnica adecuados. Los hemocultivos serán incubados durante 7 días, pero revisados diariamente. En algunos casos, como *Brucella*, se requieren tiempos de incubación más largos (4-6 semanas).

Esputos. Se tomará, a ser posible, el esputo reciente de la mañana, y lo más importante es que su origen sea verdaderamente pulmonar, aleccionando al paciente y provocándolo mediante la tos o en decúbito; muchas veces es conveniente efectuar la expectoración ante el bacteriólogo, para

Tabla 25-1. Muestras clínicas válidas y no válidas para el estudio de anaerobios

Localización	Muestras adecuadas	Muestras inadecuadas
Pulmón	Aspiración transtraqueal Líquidos de toracocentesis Punción pulmonar directa	Esputos Succión por tubo traqueal Aspiración broncoscópica
Urinaria	Punción suprapúbica. Nefrostomía	Orinas por micción y sondaje
Abscesos	Aspiración con aguja y jeringa de abscesos cerrados	Tomas superficiales, una vez abiertos
Heridas	Aspiración con jeringa y un pequeño catéter introducido lo más profundo posible	Tomas de la porción más externa de la fístula o herida
Tracto genital	Aspiración de cavidad uterina con catéter y sistema de aspiración Aspiración percutánea transfundal Culdocentesis Placenta Glándula de Bartholino Loquios sin contaminación vaginal	Tomas vaginales, cervicales o de uretra anterior
Otros	Sangre Líquidos ascíticos, sinovial y pericárdico LCR (abscesos cerebrales) Bilis Medula ósea Muestras quirúrgicas (apéndice, vesícula biliar, fragmentos de tejidos)	Tomas nasofaríngeas, faríngeas o bucales Heces o escobillonaje rectal Heridas superficiales Quemaduras

comprobar dicho origen. Se expectorará en un frasco de boca ancha, tapón de rosca, estéril y de uso único, evitando la saliva o moco de las vías altas respiratorias. En casos especiales se requiere la toma del esputo por broncoscopia y aspiración, así como la punción transtraqueal o pulmonar directa, que obvian las causas contaminantes.

Cuando se desee la búsqueda de alguna bacteria especial (*Mycobacterium, Mycoplasma, Legionella*), se indicará en el vale; los esputos no son muestras adecuadas para el estudio de anaerobios (tabla 25-1).

Exudados y frotis (conjuntival, faríngeo, genital, del conducto auditivo, etc.). La toma se realizará con hisopo o asa de cultivo (si es en el laboratorio), se procurará efectuarla en el lugar exacto de la lesión y se evitarán las capas más superficiales contaminadas por flora saprofita. Una buena iluminación con depresores de lengua con luz incorporada es indispensable en las tomas de exudados faringolaríngeos. En caso de exudados genitales, se especifican las tomas en el capítulo 31.

Líquidos (peritoneal, pericárdico, pleural, sinovial, ascítico, de diálisis, bilis, etc.). Tras la desinfección cuidadosa, se recomienda enviar al laboratorio la misma jeringa de la obtención, obturando la aguja con un tapón de goma o doblándola. Si no es así, se recogerán en tubo estéril de tapón de rosca y se enviarán rápidamente al laboratorio.

Abscesos y colecciones purulentas. Será extraído el contenido con jeringa y aguja doblando ésta o introduciéndola en un tapón de goma, con la doble finalidad de evitar contaminaciones posteriores y facilitar la viabilidad de las bacterias anaerobias. Previamente a la punción se tomarán las mismas medidas de asepsia en la piel, que han sido citadas para la extracción de sangre en los hemocultivos.

Otros productos menos frecuentes son las tomas de piel en caso de quemaduras (recoger con un hisopo estéril), los ganglios extirpados quirúrgicamente, así como las piezas biópsicas y necrópsicas: en ningún caso se usará alcohol, formol o cualquier otro antiséptico. Será indispensable un previo triturado para la posterior siembra.

En los casos de tomas para anaerobios y si la escasez del producto hace imposible el envío de la jeringa que antes se ha indicado, se realizará la toma con escobillón, que inmediatamente se introduce en un medio de transporte semisólido especial para estas bacterias (tabla 25-1).

Suero. La extracción de sangre para las pruebas inmunológicas debe realizarse en ayunas y con un equipo seco y estéril. La sangre se deja coagular espontáneamente, a temperatura ambiente, y después se separa el suero, que puede conservarse, si las pruebas no van a ser inmediatas, en nevera a 5 °C o congelado. Se tomarán medidas específicas para la prevención de hepatitis vírica y SIDA.

En muchos laboratorios son rechazadas muestras que no reúnen un mínimo de condiciones de garantía. Así, no se procesan muestras sin el nombre del enfermo, envases rotos, dañados o volcados, los enviados con gran retraso, orinas que contienen restos fecales, etc. En todos estos casos es aconsejable poner en conocimiento del peticionario la causa por la que se ha desestimado la prueba, con la doble finalidad de que se envíe una nueva muestra y ésta llegue en condiciones adecuadas.

DIAGNOSTICO DIRECTO

Puede realizarse mediante la comprobación del agente o agentes microbianos o por la demostración de metabolitos o componentes microbianos en los fluidos orgánicos.

Demostración del agente microbiano

Comprende su visualización, cultivo, aislamiento e identificación. Es necesario recordar que cualquier resultado negativo no significa ausencia de enfermedad, por lo que en algunos casos puede ser necesaria la repetición de la toma para el éxito de la investigación, siempre que aquélla sea representativa.

Examen microscópico. En el producto remitido puede realizarse una observación en fresco (al microscopio de luz ordinaria, de campo oscuro o contraste de fases), que permitirá visualizar la morfología, cantidad y afinidad tintorial de las bacterias, siendo prototipo de las tinciones las de Gram y Ziehl-Nielsen. Los microorganismos se visualizan en la muestra si su concentración es de 10^4-10^5/ml. El carácter y cantidad de células epiteliales y leucocitos tiene un gran valor como índice de aceptabilidad de la muestra. Así, la presencia de células epiteliales poligonales en un esputo indica contaminación con saliva, mientras que gran cantidad de piocitos y células epiteliales ciliadas son índice de que la muestra sí proviene del tracto respiratorio inferior. De la misma forma, células epiteliales de origen vaginal hacen poco válido un estudio de orina o exudado endometrial.

Sueros específicos permiten en LCR la identificación por el fenómeno de hinchazón de la cápsula o *quellung* de *S. pneumoniae* o *H. influenzae*, tras tinción negativa con azul de metileno. Algunas bacterias requieren tinciones especiales, como *Borrelia*, *Rickettsia*, *Chlamydia* y *Legionella*, que se citan en los capítulos respectivos. La tinción con fluorocromos permite visualizar al microscopio de luz ultravioleta ciertas bacterias, como el bacilo de Koch. Son cada vez más usadas las técnicas de inmunofluorescencia directa, que no sólo permite la visualización de la morfología y existencia bacterianas, sino también la identificación de la especie observada, siempre y cuando no existan fenómenos de inmunidad cruzada con otras bacterias; además, esta técnica permite un diagnóstico muy precoz.

En líneas generales, el examen microscópico directo no tiene más que un valor relativo en el diagnóstico, el cual es nulo en los productos normalmente muy contaminados por flora comensal (heces, frotis faríngeo, esputos, etc.), simplemente orientativo en las zonas estériles (LCR, orina, líquido pleural, etc.) y significativo en contados casos (presencia de bacilos ácido-alcohol-resistentes en el esputo, diplococos gramnegativos en el líquido cefalorraquídeo, presencia de bacterias esporuladas en caso de gangrena gaseosa, etc.), si bien no exime de un cultivo que permita la completa identificación del microorganismo visualizado.

Cultivo y aislamiento. Un medio de cultivo intenta el crecimiento y reproducción *in vitro* de las bacterias, para observar sus propiedades y conseguir un mejor estudio bioquímico e inmunológico, al contar con material en cantidad suficiente. Por ello constará de unas propiedades (pH adecuado, sales, nutrientes, condiciones de aero/anaerobiosis, etc.), que serán las más idóneas para la bacteria que deseamos estudiar y que se citan en cada una de ellas en particular, en la bacteriología sistemática.

Los medios de cultivo se dividen por su finalidad en: medios de *enriquecimiento* (que tratan de aumentar el número de bacterias existentes, si consideramos que se encuentran en cantidad muy exigua, a la vez que inhiben la flora de asociación acompañante) y de *aislamiento* (que tienen por fin conseguir una colonia o clon, es decir, grupo de bacterias procedentes de una sola, con todas sus propiedades); los primeros son principalmente líquidos y los segundos, sólidos. Los medios *selectivos* son aquellos que poseen algún componente que permite o no el crecimiento de una especie bacteriana, carácter de importancia para su identificación, y los *diferenciales*, aquellos que las diversas especies que hay que testar alteran de forma distinta, por lo que suelen llevar indicadores (sustancias que varían su coloración según el pH del medio) u otros índices de reacciones químicas definidas. Ambos medios, selectivos y diferenciales, pueden ser sólidos o líquidos (v. cap. 7).

El objetivo clásico del aislamiento es la separación de los microorganismos en grupos, que puedan identificarse siguiendo los principios de la microbiología.

El número y tipo de medios que hay que elegir para una inoculación primaria en el laboratorio varía con el tipo de muestra, investigación solicitada y criterios fijados por los bacteriólogos del servicio. Los medios más comúnmente usados se recogen en la tabla 25-2. Para bacterias de crecimiento muy difícil o especiales, tales como *Legionella*, *Chlamydia*, espiroquetas, etc., la inoculación se hará sobre los medios que se indican en el capítulo correspondiente.

La siembra se realizará a partir de la muestra con pipeta estéril (a partir de líquidos o medios de transporte) con asa de platino o nicrom, o directamente con el hisopo enviado o la jeringa llena de pus o líquido. El tamaño del inóculo dependerá de la concentración microbiana, previamente estu-

Tabla 25-2. Medios de cultivo más usados para la inoculación primaria de muestras

Medio	Tipo	Finalidad
Caldo común	E	Aerobios en general
Caldo BHI	E	Aerobios en general
Caldo-tioglicolato	E	Aerobios y anaerobios
Caldo-selenito	E	*Salmonella*
Medio de Kauffmann Müller	E	*Salmonella*
Caldo GN de Hajna	E	*Salmonella, Shigella*
Caldo de Shaedler	E	Anaerobios en general
Agua de peptona alcalina	E	*Vibrio*
Agar común	A	Crecimiento en general
Agar-sangre	A	Crecimiento en general
Agar-sangre-tobramicina	A, S	Anaerobios
Agar-chocolate	A	Crecimiento en general
Agar-chocolate-bacitracina	A, S	*Haemophilus*
Agar-Müller Hinton	A	*Neisseria*
Agar-Mac Conkey	A, D	Enterobacterias
Agar-Levine (EMB)	A, D	Coliformes
Agar-sulfito-bismuto	A, S, D	*Salmonella*
Agar-verde brillante	A, S, D	*Salmonella*
Agar-desoxicolato-citrato	A, S, D	*Salmonella*
Agar-SS	A, S, D	*Salmonella, Shigella*
Agar LIAM	A, S	*Salmonella*
Agar-TCBS	A, S, D	*Vibrio*
Agar-Blaser-Wang	A, S	*Campylobacter*
Agar-CNA (Columbia)	A, S	Bacterias grampositivas, Anaerobios
Agar-manitol sódico	A, S, D	*Staphylococcus*
Agar-Thayer Martin (VCN)	A, S	*Neisseria*
Agar-BR (Brucella-cisteína)	A	Anaerobios
Medio de Lowestein-Jensen	A, S	*Mycobacterium*
Agar-Sabouraud	A, S	Hongos

E: enriquecimiento. A: aislamiento. S: selectivo. D: diferencial.

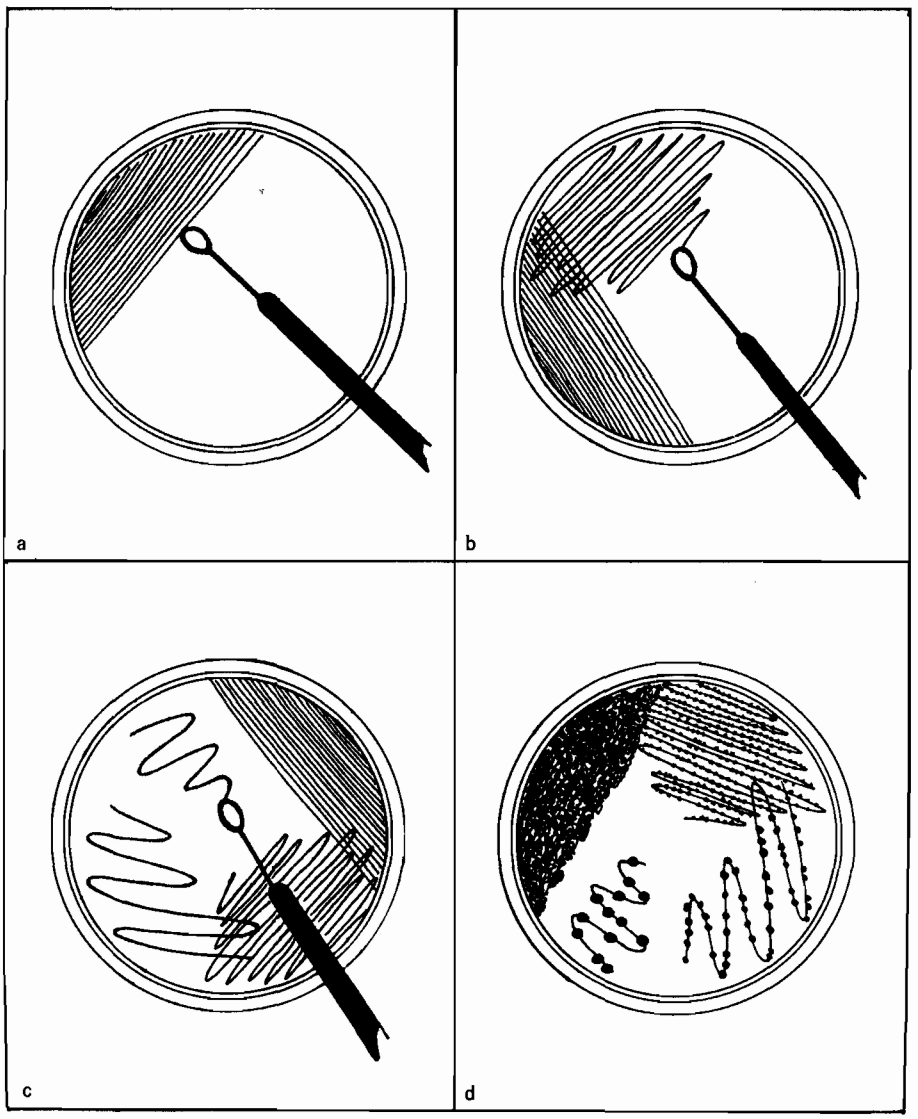


Fig. 25-1. Método de siembra por estrías. *a)* Siembra en estrías apretadas. *b)* Sin volver a cargar el asa, sembrar en otro cuadrante, girando 90° la placa. *c)* Realizar lo mismo en el tercer y cuarto cuadrante con estrías más anchas. *d)* Se obtienen colonias perfectamente aisladas, tras la incubación de la placa.

diada en la tinción, siendo siempre mayor si se trata de medios selectivos o de enriquecimiento. En contados casos (recuentos de bacterias) se utilizan pipetas o asas calibradas.

Los medios líquidos se siembran en profundidad. La finalidad de obtener colonias aisladas en medios sólidos se conseguirá sembrando en estrías sobre aquéllos; los diversos métodos existentes intentan ir diluyendo la muestra para que al final queden suficientemente separadas las colonias; para ello se extiende con el asa o escobillón hacia adelante y atrás sobre un sector que ocupe un cuarto o un tercio de la placa, sosteniendo suavemente el asa entre el pulgar y el índice, y dejando que el peso del asa ejerza su propia presión. Tras haber sembrado el primer sector, se gira 90° la placa, y se sigue sembrando de tal forma que las nuevas estrías corten las primeras; así se repite el proceso hasta cubrir toda la placa (fig. 25-1).

Las placas inoculadas se incuban invertidas para impedir que el agua de condensación contamine toda la superficie del medio; la temperatura usual es la de 35 ± 1 °C, con excepciones importantes que convierten el medio en selectivo (*Yersinia enterocolitica, Listeria, E. coli, Campylobacter fetus,* hongos). En ciertos casos (*Neisseria*) se requiere una cierta humedad (70-80 %) en el ambiente. Normalmente, las placas se incuban en aerobiosis, con la excepción de la búsqueda de anaerobios (cap. 35) y de las bacterias microaerófilas que necesitan un 5 a 10 % de anhídrido carbónico para su crecimiento, lo que se consigue en jarras herméticas, donde se produce el CO_2 químicamente (con HCl y $NaHCO_3$), o por una vela encendida hasta apagarse, que genera un 2-3 % de aquél.

Identificación. La identificación de una especie microbiana se efectúa por un mayor o menor número de pruebas fisiológicas, bioquímicas o metabólicas, distintas para cada género bacteriano.

De los medios de cultivo primariamente inoculados, se aconseja una lectura después de las 15-18 horas de incubación (incubación durante la noche). La mayoría de las veces, tras este lapso de tiempo ya pueden reconocerse las colonias, y en algunos casos se puede hacer un informe preliminar al médico peticionario, incluso en el caso de que el cultivo sea negativo. Las muestras pueden requerir una nueva incubación, máxime si se trata de aquellas bacterias que tienen un crecimiento lento (*Streptococcus, Listeria*) o muy lento (*Brucella, Mycobacterium*). Se tomará nota de los distintos tipos de colonias observados, comprobando en cada

una su morfología (lisa o rugosa, bordes, elevación, transparencia, brillo, consistencia, pigmento difusible o no, etc.) y presencia de hemólisis en el agar-sangre. En algunos casos, el olor puede ser muy característico (*Proteus*, *Pseudomonas*). En los medios líquidos se estudiará el grado de crecimiento, turbidez y uniformidad de la colonia, presencia de precipitado y sus caracteres, formación de velo, etc.

El microbiólogo clínico deberá decidir cuál de los microorganismos aislados en el cultivo inicial debe ser identificado. No existen normas para cubrir todas las posibles eventualidades. Si, tras la inspección cuidadosa y posibles tinciones, las bacterias representan la flora normal de la zona del cuerpo de donde se obtuvo la muestra, no es necesario proseguir con su identificación. Si la muestra proviene de un área normalmente estéril, se iniciarán las pautas de identificación. Esta se realiza por un número variable de pruebas bioquímicas o metabólicas, distintas para cada género bacteriano y que, por ello, se estudian en la bacteriología especial. Muchas veces, las pruebas son completadas y confirmadas por otras inmunológicas, basadas en la especifidad de los antígenos bacterianos, frente a anticuerpos conocidos; esta especificidad ha mejorado manifiestamente con el uso de anticuerpos monoclonales.

Por último, se puede determinar la sensibilidad de la cepa aislada a los antibióticos más usuales en clínica, para comprobar la utilidad del quimioterápico que se ha ensayado o de otros nuevos (v. pág. 132).

Comprobación de la patogenicidad. En líneas generales, hay veces en que no es necesario tras un aislamiento determinado demostrar la patogenicidad del microorganismo, pues éste es saprofito reconocido (micrococos, antracoides, etc.), mientras que otras veces la bacteria es de marcada patogenicidad o no es fácil la demostración de su acción patógena (enterobacterias). Por último, en ciertos casos, la patogenicidad parece ir unida a propiedades bioquímicas determinadas (estafilococo) o a determinantes de la acción patógena del microorganismo (reacciones bioquímicas o inmunológicas).

En contados casos y de manera cada vez menos frecuente, se puede recurrir a la inoculación experimental. Esto requiere elegir al animal que hay que utilizar en relación con la bacteria de que se trate (ratón blanco para el neumococo o el bacilo tetánico; el cobayo para el bacilo tuberculoso o la leptospirosis; el conejo para los gérmenes piógenos, etc.). También es muy importante la elección de la vía de administración del espécimen (cutánea, intramuscular, intravenosa, intracerebral, digestiva, corneal, raquídea, por inhalación, etc.), pues la puerta de entrada es de gran interés en el mecanismo de difusión de los microbios patógenos. A partir del día de inoculación se observará cuidadosamente el animal (temperatura, peso, aparición de síntomas, estado del hocico y pelos, etc.), y en todos los casos (muerte espontánea o sacrificio) se realizará una cuidadosa autopsia para observar las lesiones producidas y verificar las tomas de los productos sospechosos para una nueva identificación.

Demostración de metabolitos o componentes microbianos. Técnicas de diagnóstico rápido

La necesidad de un diagnóstico microbiano precoz en situaciones de urgencia clínica ha determinado en los últimos años la aparición de técnicas que permiten en menos de 24 horas, instaurar un tratamiento etiológico apropiado, salvando así la vida de los pacientes o impidiendo graves secuelas. En la tabla 25-3 se recogen las principales técnicas de diagnóstico rápido, entre las que destacamos:

Tabla 25-3. Principales técnicas de diagnóstico rápido

Métodos	Fundamento	Técnicas
Microscópicos	Visualización del agente microbiano	Tinciones: Gram, Ziehl-Nielsen, auramina, naranja de acridina Microscopía electrónica: directa, inmunomicroscopía electrónica Fluorescencia: directa, indirecta y anti-C3
Químicos	Detección de metabolitos microbianos	Cromatografía líquido-gas
Inmunológicos	Detección de antígenos microbianos	Aglutinación sobre látex Coaglutinación sobre *S. aureus* Inhibición de hemaglutinación Hemaglutinación inmunoadherente Doble inmunodifusión Contrainmunoelectroforesis Radioinmunoanálisis Enzimoinmunoensayo
Futuros	ADN recombinante Lectina	

1. *Métodos microscópicos.* Se basan en la visualización del agente microbiano. Son los métodos más antiguos, pero continúan como muy útiles y económicos, en la orientación y a veces diagnóstico específico de muchas enfermedades: la tinción de Gram (líquido cefalorraquídeo, exudados genitales), la de Ziehl-Nielsen (secreciones pulmonares, orina), la técnica de hinchazón de la cápsula (neumococos) y la microscopia electrónica últimamente mejorada por la inmunomicroscopia electrónica muy específica en las enfermedades víricas (varicela, herpes, rotavirus). La fluorescencia sobre productos patológicos, con anticuerpos, anti-IgG o anti-C3 marcados, es de gran utilidad y cada vez más utilizada (*Neisseria*, *Haemophilus*, *Legionella* y enfermedades víricas).

2. *Métodos químicos*, en los que se intenta detectar metabolitos microbianos, que, por ser altamente específicos, llevan a un diagnóstico exacto en muy pocas horas. La cromatografía líquido-gas, que empezó siendo de marcada utilidad en bacterias anaerobias, se está extendiendo a otras bacterias, virus y hongos, con excelentes resultados, por su alta sensibilidad y especificidad.

De la misma forma, métodos espectrofotométricos y los derivados de la utilización de glucosa marcada por C14, que detectan rápidamente el CO_2 marcado y liberado (*Mycobacterium*), han demostrado gran utilidad en mejorar los tiempos de crecimiento e identificación de ciertas bacterias.

3. Los *métodos inmunológicos* han aportado un gran avance en el diagnóstico rápido de los procesos infecciosos:

aglutinación sobre partículas de látex (*Peptoestreptococcus, S. pneumoniae, Klebsiella*), inhibición de la hemaglutinación (*Candida*, virus), hemaglutinación inmunoadherente (citomegalovirus, hepatitis vírica), inmunodifusión y contrainmunoelectroforesis (meningitis por *S. pneumoniae, Haemophilus* y *Neisseria, B. fragilis, Actinomyces*). Los métodos de radioinmunoensayo e inmunoenzimáticos detectan muy específicamente antígenos bacterianos, fúngicos (*Aspergillus, Candida*), protozooarios y sobre todo víricos (hepatitis, gripe, herpes, etc.). El uso de anticuerpos monoclonales en las técnicas inmunológicas rápidas ha aumentado su especificidad. Las bases de cada una de estas técnicas se citan en el capítulo 22.

4. El *método de hibridación del ácido nucleico*, mediante utilización de dos fragmentos adyacentes del virus de referencia (prueba en *sandwich*), permite detectar muy específicamente antígenos de adenovirus y herpesvirus. El uso de esta técnica y la de las lectinas constituye un futuro inmediato muy prometedor en las técnicas de diagnóstico rápido.

DIAGNOSTICO INDIRECTO

Los métodos indirectos de diagnóstico se basan en la demostración de anticuerpos circulantes o de una hipersensibilidad de tipo retardado. Ahora bien, estas pruebas no excluyen en absoluto la necesidad de un diagnóstico directo, pues el verdadero diagnóstico sería el aislamiento e identificación, seguidos de una comprobación de la aparición de anticuerpos específicos, cuya tasa en varias determinaciones consecutivas demostrará un aumento significativo.

Demostración de anticuerpos

Como los anticuerpos tardan en aparecer varios días, no es posible llegar a un diagnóstico precoz, pero son de una gran utilidad.

El diagnóstico de infección activa o enfermedad se efectúa siempre por un aumento de cuatro o más veces de los títulos en una segunda determinación, efectuada después de 1 ó 3 semanas de la primera. Por ello, en las infecciones agudas, el diagnóstico es generalmente retrospectivo, mientras que en las infecciones subagudas y crónicas se obtiene en el curso de la enfermedad.

La demostración en una sola toma de un título bajo de anticuerpos en personas no enfermas tiene interés epidemiológico, pues permite conocer el grado de difusión del agente en la población.

En algunos casos, si se tiene en cuenta que las IgM son las primeras en aparecer y desaparecer durante el curso de la infección, su demostración tendrá gran valor diagnóstico de enfermedad reciente. También las reacciones inmunológicas pueden efectuarse con otros humores, como el LCR, humor acuoso, líquido ascítico, leche, orina, etc., en los que aparecen los anticuerpos a títulos más bajos.

Según evolucionan las infecciones, disminuye la multiplicación de las bacterias y aumentan los anticuerpos, lo cual refleja la respuesta inmunológica del huésped. La administración precoz de antibióticos disminuye el estímulo antigénico, de tal modo que las reacciones serológicas pueden no hacerse positivas o serlo a título muy bajo. Por el contrario, una vez que las bacterias han sido destruidas, los anticuerpos pueden persistir unos años e incluso toda la vida, pero tienden a declinar cuando el paciente cura. De producirse una recaída de la enfermedad, los anticuerpos aumentan de modo significativo.

Las principales reacciones que se utilizan en el diagnóstico de rutina son las de aglutinación, precipitación, fijación de complemento, inmunofluorescencia, neutralización *in vivo* e *in vitro*, inmunoensayo, etc., que ya se han estudiado en el capítulo 22. El uso de anticuerpos monoclonales en las técnicas de *sandwich* y en las que utilizan antiglobulina humana ha aumentado su especificidad.

Mención especial requiere el diagnóstico serológico de las infecciones fetales. En el feto normal se encuentran anticuerpos maternos que desaparecen gradualmente dentro del primer año de vida y son de tipo IgG (la IgM no atraviesa la barrera placentaria). La demostración de una alta concentración de IgM en la sangre del cordón umbilical es manifestación de estímulo antigénico fetal excesivo (concentraciones de IgM superiores a 20 mg % pueden considerarse altas). Además, existe una relación directa entre gravedad de la infección y concentraciones altas de IgM umbilical, sobre todo en la rubéola congénita. Por ello, la marcha sistemática para el diagnóstico de infecciones fetales será primero determinar la IgM en el cordón umbilical y, si ésta es alta, descubrir por anticuerpos anti-IgM específicos si se trata de una sífilis, rubéola, toxoplasmosis o infección por citomegalovirus. Pero en un 60 % de neonatos con IgM alta no se encuentra infección clínica ni subclínica alguna. El aumento significativo de las IgG específicas o su mantenimiento confirmarán también el diagnóstico.

Hipersensibilidad de base celular

La hipersensibilidad retardada puede demostrarse mediante pruebas intradérmicas. Estas pruebas indican diagnóstico de infección, pero no de enfermedad infecciosa; su interpretación no se debe olvidar: las reacciones negativas indican ausencia de infección y las positivas, infección actual o anterior. Como ya se ha indicado, las principales reacciones se utilizan en la tuberculosis, brucelosis, lepra, muermo, chancro blando, linfogranuloma venéreo y difteria, pero también se emplean en virosis (parotiditis, herpes, etc.), micosis (histoplasmosis, candidiasis, etc.), protozoosis (leishmaniosis, toxoplasmosis, etc.) y helmintiasis (hidatidosis, ascariasis, triquinosis, etc.) (v. cap. 23).

Los tests de la transformación linfoblástica, inhibición de la migración de los macrófagos, etc. son de un indudable interés diagnóstico.

*
* *

El laboratorio de microbiología desempeña también un papel fundamental no sólo en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, sino también en el estudio de su evolución clínica, tratamiento, epidemiología y profilaxis.

En el tratamiento, el estudio de la interacción *in vitro* bacteria-antibiótico, en que se comprueba las concentraciones bacteriostáticas o mínimas inhibidoras, es un dato de verdadero interés en la terapia de los procesos bacterianos.

Es sobre todo en el medio hospitalario donde las enterobacterias, cocos grampositivos, *Pseudomonas, Haemophilus,* etc. adquieren fácilmente plásmidos que codifican la resistencia a los antibióticos. Las bases de dicho estudio se ven en el capítulo correspondiente.

En la evolución de la enfermedad, el control del laboratorio tiene un gran interés para comprobar la utilidad del tratamiento y la disminución de los datos patológicos obtenidos en los estudios diagnósticos. El control final con desaparición del agente microbiano permite dar el alta clínica y comprobar que el sujeto no permanece portador de bacterias patógenas.

En la epidemiología, las técnicas del «tipado» tienen la finalidad de buscar marcadores epidemiológicos que permitan observar la marcha de las infecciones o su detección en diferentes enfermos, material o cualquier localización. Las técnicas usadas son la serotipia (que demuestra los diversos antígenos de las cepas), biotipia (mediante pruebas bioquímicas elegidas), fagotipia o lisotipia (mediante el uso de grupos de fagos seleccionados) y la bacteriocinotipia (o tipado por la sensibilidad de las cepas a las bacteriocinas producidas por otras cepas bacterianas).

También tiene un gran interés epidemiológico el conocimiento del estado inmunitario de las poblaciones, mediante el estudio de anticuerpos séricos específicos o reacciones de neutralización *in vivo* (escarlatina, difteria).

En la profilaxis, las técnicas actuales de prevención de resistencias hospitalarias a los antibióticos, mediante un adecuado control de su uso, están íntimamente ligadas al laboratorio de epidemiología microbiana.

BIBLIOGRAFIA

Gómez García, A. C.: El laboratorio de anaerobios. Recogida de muestras, transporte y aislamiento. En García Rodríguez, J. A. (dir.): Bacterias anaerobias, 485-514. Univ. de Salamanca, 1980.

Gorzynski, E. A.; Wicher, K., y Flanagan, Th. D.: Laboratory Diagnosis in Infectious Diseases. En Milgrom, F., y Flanagan, Th. D. (dirs.): Medical Microbiology. Churchill Livingstone, New York, 1982.

Green, D. M.: Infective Syndromes and Diagnostic Procedures. En Mackie, T. J., y McCartney, J. E. (dirs.): Medical Microbiology, vol. 1, 13.ª ed, 591-600. Churchill Livingstone, New York, 1978.

Isenberg H. D.; Schoenknetcht, F. D., y Graevenitz, A.: Collection and Processing of Bacteriological Specimens. Cumitech. n.º 9. American Society of Microbiology, Washington, 1979.

Piédrola, G.: Fundamento del diagnóstico en las infecciones. En Matilla, V.; Pumarola, A., y cols. (dirs): Microbiología y parasitología. Amaro, Madrid, 1980.

Piédrola, G.: Manual de recogida y envío de muestras. Hospital Clínico San Cecilio, Granada, 1984.

SEIMC: Métodos de diagnóstico rápido. Borobio, M. V., y Perea, E. (dirs.): Monografía, 1 Sevilla, 1985.

Capítulo 26

Epidemiología y profilaxis de las enfermedades infecciosas

Agustín Pumarola

La palabra epidemiología, de epi = sobre y demos = pueblo, significa etimológicamente estudios sobre la población, y se ha definido como la ciencia que se ocupa del estudio de las enfermedades y de todos los hechos relacionados con la salud, para llegar al conocimiento de los factores causales que determinan su frecuencia y distribución en la población.

En consecuencia, la epidemiología de las enfermedades infecciosas o transmisibles puede considerarse como la ciencia que estudia la infección y la enfermedad infecciosa, así como los factores que determinan su frecuencia y distribución en los grupos de población.

Se emplean indistintamente los términos enfermedad infecciosa o transmisible, aunque existen algunas diferencias, para indicar que la epidemiología se ocupa de las enfermedades que se pueden transmitir a un huésped por cualquier vía y no exclusivamente por contagio directo (enfermedades contagiosas o infectocontagiosas).

El epidemiólogo, a diferencia del clínico, se ocupa de las enfermedades tomando como base no al individuo, sino la comunidad, estudiando los problemas de la enfermedad con un enfoque ecológico en relación con el complejo medio en que se desarrolla, para llegar a un mejor conocimiento de sus causas o factores determinantes.

Según los métodos empleados para su estudio, la epidemiología se ha dividido tradicionalmente en epidemiología descriptiva, que se ocupa de la frecuencia y distribución de las enfermedades y sus factores determinantes en los grupos de población, y epidemiología analítica, que se dirige al estudio e investigación de los factores causales. Pero, además de estos métodos basados en la simple observación de lo que ocurre en la naturaleza, hay que incluir la epidemiología experimental, que impone las condiciones en grupos seleccionados y controlados, y la epidemiología teórica, que establece modelos matemáticos que simulan el curso natural de la enfermedad y la producción de epidemias.

CADENA DE INFECCION

Para que se produzca la infección y se pueda transmitir a nuevos huéspedes, es indispensable la existencia de una cadena constituida por tres factores o eslabones, relacionados con el agente, el medio ambiente y el huésped, que se denominan factores epidemiológicos primarios:

1. El reservorio y la fuente de infección.
2. El mecanismo de transmisión.
3. La población susceptible.

Estos a su vez están influidos por las condiciones ambientales, sociales y económicas (factores epidemiológicos secundarios), que muchas veces tienen una acción determinante.

Reservorio y fuente de infección

Los agentes infecciosos son diversos (bacterias, virus, hongos, protozoos y helmintos) y por lo general no se encuentran aislados, sino en seres vivos (hombre, animales) o en materiales inanimados que les sirven de soporte, y se denominan reservorios cuando constituyen el hábitat natural del agente infeccioso, donde éste normalmente vive y se multiplica, y fuentes de infección cuando constituyen un hábitat ocasional a partir del cual el agente pasa inmediatamente al huésped. Muchas veces, el reservorio y la fuente de infección se encuentran en un mismo ser vivo, como el hombre (fiebre tifoidea, sarampión, poliomielitis), mientras que en las zoonosis, como la rabia, peste y fiebre amarilla, los animales salvajes constituyen el reservorio, y otros animales o el hombre actúan como fuentes de infección.

El reservorio y la fuente de infección pueden ser el hombre, los animales o materiales inanimados.

El hombre

Hay que distinguir entre el hombre enfermo y el estado de portador (tabla 26-1).

El hombre enfermo. Puede eliminar gérmenes cuando se encuentran en tejidos que están en relación con el exterior, durante un período de tiempo variable y característico para cada enfermedad infecciosa. Es el período de transmisibilidad, que generalmente no coincide con la enfermedad y explica la poca eficacia de las medidas de aislamiento.

En relación con la gravedad se pueden presentar casos mortales, graves, moderados y leves o ambulatorios, y en cuanto a la forma clínica hemos de distinguir las formas tí-

picas, que presentan la sintomatología clásica y permiten llegar pronto al diagnóstico, de las formas atípicas y abortivas con un cuadro distinto al clásico y por lo general poco expresivo.

Hay que tener en cuenta que las formas leves, atípicas y abortivas son las más peligrosas, porque muchas veces pasan inadvertidas o se llega al diagnóstico cuando la infección ya ha difundido.

Portador. Es toda persona infectada, que, sin presentar manifestaciones clínicas, es capaz de eliminar y transmitir gérmenes patógenos, y constituye un peligro potencial para la comunidad. En su más amplia acepción comprende:

1. Portadores precoces o en período de incubación. El período de incubación no es más que un período de multiplicación de los gérmenes en el organismo, que pueden eliminarse cuando se encuentran en contacto con el exterior, como en la difteria, sarampión, tos ferina y poliomielitis.
2. Portadores convalecientes. Se presentan durante la convalecencia de la enfermedad, pues el convaleciente puede continuar eliminando gérmenes durante un período de tiempo variable. Se denominan portadores temporales cuando la eliminación dura 1-2 meses (difteria, escarlatina, tifoidea) y portadores crónicos cuando puede durar varios años, como ocurre en el 3-5 % de casos de fiebre tifoidea, especialmente en mujeres de 40-50 años que presentan una infección crónica de la vesícula biliar o del aparato urinario.
3. Portadores sanos o por contacto. Son personas sanas que eliminan gérmenes patógenos sin haber padecido la enfermedad infecciosa. Es debido a que la infección ha pasado inadvertida (infecciones inaparentes) o a que el organismo presenta cierto grado de inmunidad, como ocurre en la meningitis meningocócica y la difteria. También pueden considerarse en este grupo los estados de colonización por oportunistas, los cuales con los portadores convalecientes crónicos constituyen el principal reservorio de gérmenes en los períodos interepidémicos.

Según su localización se distinguen portadores nasales, faríngeos, cutáneos, fecales, urinarios, etc., y su eficacia está en relación con la capacidad de difusión. Así, existe un 10 % de portadores de estreptococos del grupo A en la población, que pueden ser faríngeos o nasales, y estos últimos son mucho más eficaces como consecuencia de su mayor poder de difusión o transmisión. Asimismo, dentro de los portadores nasales de estafilococos, sólo un pequeño número se comportan como diseminadores eficaces *(heavy dispersers)*.

A veces, las bacterias o parásitos no se eliminan al exterior, sino que permanecen en la sangre o tejidos del enfermo o portador; en estos casos también pueden actuar como reservorios o fuentes de infección siempre que la transmisión se efectúe por medio de artrópodos picadores *(Plasmodium, Leishmania, Trypanosoma)*, jeringas (virus de la hepatitis B) o ingesta de carne infestada *(Trichinella spiralis)*.

Tabla 26-1. El hombre como reservorio

Cuando elimina los agentes infecciosos al exterior
Hombre enfermo
Gravedad: formas graves, moderadas y leves
Forma clínica: formas típicas, atípicas y abortivas
Portadores
Portadores en período de incubación (sarampión, tos ferina)
Portadores convalecientes
Temporales (fiebre tifoidea, disentería bacilar)
Crónicos (fiebre tifoidea, hepatitis B)
Portadores sanos
Infecciones inaparentes (poliomielitis)
Immunidad sérica (difteria, meningitis)
Estados de colonización (bacilos gramnegativos, estafilococos)

Los animales

Los vertebrados pueden actuar como reservorios y fuentes de infección cuando padecen infecciones transmisibles al hombre (zoonosis) o son portadores de gérmenes capaces de producirlas. Las enfermedades que pueden transmitir son numerosas, como la rabia (perro), tuberculosis (bóvidos), brucelosis (bóvidos, óvidos y cápridos), peste bubónica y leptospirosis (múridos), etc. También hay que incluir los artrópodos, pues en ellos la infección puede mantenerse durante largo tiempo (hibernación) y, a veces, toda su vida; sin embargo, actúan como verdaderos reservorios cuando transmiten la infección a la descendencia por vía transovárica, como ocurre con las garrapatas de la familia *Ixodidae* (fiebre recurrente, fiebres maculosas) o los ácaros trombídidos (fiebre de las malezas), aunque por lo general la transmisión no se mantiene durante muchas generaciones.

Materiales inanimados

La importancia del suelo, agua y fomites, como reservorios de gérmenes patógenos, queda limitada: *a*) cuando son capaces de presentar formas especiales de resistencia que conservan su viabilidad durante años, como los esporos de *B. anthracis, C. tetani* y *C. botulinum*, y de los clostridios de la gangrena gaseosa, los clamidosporos de *Coccidioides immitis* y de *Histoplasma capsulatum*, los huevos de helmintos *(Ascaris)* y los quistes de protozoos *(Entamoeba histolytica)*; *b*) cuando las condiciones ambientales son propicias a su desarrollo, así las leptospiras pueden conservar su vitalidad y aun multiplicarse durante cierto tiempo en el limo o cieno de las charcas, en especial de los arrozales, cuando encuentran condiciones adecuadas de humedad, temperatura, pH, oscuridad y ambiente nutritivo, y *c*) cuando una parte del ciclo evolutivo se cumple en el medio externo *(Ancylostoma)*. Pero, además, hay que incluir aquellos gérmenes patógenos potenciales de vida libre (*Pseudomonas, Flavobacterium, Enterobacter agglomerans*, etc.), capaces de producir infecciones cuando existe una disminución de los mecanismos de defensa (oportunistas).

Mecanismos de transmisión

Son los diversos procedimientos que los agentes infecciosos utilizan para su transmisión desde la fuente de infección a la población susceptible (tabla 26-2). Depende de:

1. La *vía de eliminación* de los microorganismos de la fuente de infección (respiratoria, conjuntival, digestiva, urogenital, cutánea).

Tabla 26-2. Mecanismos de transmisión

Vía de eliminación, puerta de salida	Mecanismo de transmisión	Puerta de entrada	Enfermedad o agente infeccioso
Respiratoria	Gotitas de saliva (CD) y núcleos de gotitas (VA) (hablar, toser, estornudar)	Aparato respiratorio	Virosis respiratorias, sarampión, tuberculosis, enf. meningocócica
	Transferencia directa de saliva (vía boca-boca) (CD)	Boca	Mononucleosis infecciosa (virus de Epstein-Barr)
	Contaminación salival de manos u objetos (vía boca-manos o boca-objetos) (CD-CI)	Boca o faringe	Meningococo, rinovirus, herpesvirus, virus de Epstein-Barr, enterovirus
	Mordedura (CD)	Piel	Rabia
Conjuntival	Manos (CD), objetos (CI), moscas (A), agua (VC)	Conjuntiva	Tracoma, adenovirus
Intestinal (heces)	Manos (CD), agua, leche, alimentos (VC) (vía fecal-oral)	Boca	Enterovirus, hepatitis A, cólera, f. tifoidea, toxiinfecciones alimentarias
	Objetos (termómetros) (CI), (vía fecal-rectal)	Recto	Hepatitis A
Piel	Contacto (CD), fomites (CI)	Piel	Carbunco, verruga común
	Núcleos, polvo (VA)	Aparato respiratorio	Poxvirus
Urogenital	Contacto sexual (CD)	Urogenital	Blenorragia, sífilis, herpes tipo 2, *C. trachomatis*, citomegalovirus, toxoplasmosis, rubeola
	A través de la placenta (CD)	Sangre	
	Durante el parto (CD)	Conjuntiva, aparato respiratorio, piel	*Ophtalmia neonatorum*, herpesvirus, citomegalovirus
Sangre	Artrópodos picadores (A)	Piel	Paludismo, fiebre amarilla, peste, tifus exantemático, etc.
	Transfusiones de sangre o sus productos, agujas de inyección u otros instrumentos (VC)	Piel	Hepatitis B, virus EB, paludismo, sífilis, SIDA

CD, contacto directo; CI, contacto indirecto; VA, vía aérea; A, artrópodos; VC, vehículo común.

2. Su *capacidad de supervivencia en el medio externo*, que muchas veces limita la eficacia de ciertos mecanismos de transmisión.

3. La *puerta de entrada* en el huésped susceptible. La más eficaz es aquella que favorece su multiplicación o facilita su rápido acceso a los tejidos u órganos, donde el agente infeccioso se establece y multiplica. Algunos pueden utilizar varias puertas de entrada (*R. prowazecki*, virus de la fiebre amarilla) y, por el contrario, para otros son muy restringidas (epitelio de las vías respiratorias y virus de la gripe).

4. La *dosis infectiva*, que muchas veces depende, a su vez, del mecanismo de transmisión y de la puerta de entrada. Se ha demostrado que por vía aérea y entrada respiratoria es suficiente un número muy pequeño de microorganismos o de virus para producir la infección, mientras que por vía digestiva en general debe ser mucho mayor.

El mecanismo principal es aquel que es capaz de transmitir el agente infeccioso a la puerta de entrada más eficaz y a la dosis suficiente, pues en general para producir la infección es más eficaz la llegada de dosis mínimas por la puerta de entrada adecuada que dosis mayores por otra vía de ingreso.

La transmisión se puede efectuar por 4 mecanismos fundamentales: contacto, vehículo de infección común, vía aérea y artrópodos.

Contacto (tabla 26-3)

En estos casos, la transmisión implica la existencia de cierto contacto entre la fuente de infección y el huésped susceptible de manera que la transmisión se realiza en un período de tiempo corto durante el cual el agente infeccioso no experimenta modificaciones o éstas son muy ligeras. Es quizás el mecanismo más importante por la gran cantidad de agentes que se pueden transmitir y la constancia con que se producen las oportunidades de contagio. El contacto puede ser directo, indirecto o por gotitas.

Contacto directo. La transmisión por *contacto directo* exige el contacto físico del susceptible con la fuente de infección o con los productos infecciosos del enfermo o portador.

En el primer caso, el contacto del susceptible con la fuente de infección puede ser con la *piel* (verruga común, piodermitis, sarna, pediculosis), *mucosas* (mononucleosis infecciosa e infecciones de transmisión sexual) o *cabellos* (tiñas). Son las infecciones consideradas por antonomasia por

Tabla 26-3. Contacto

- *Contacto directo* (físico)
  - Con la fuente de infección
    - Cabellos (tiñas)
    - Piel (impétigos)
    - Mucosas (enfermedades venéreas)
  - Con productos del enfermo
    - Secreciones respiratorias (boca-boca)
    - Heces, orina (intestino-boca)
  - Infecciones profesionales
  - Infecciones congénitas
  - Infecciones con reservorio animal
- *Contacto indirecto* (por intermediario)
  - Tercera persona (manos)
  - Objetos contaminados (contaminación salival o faríngea)
- *Gotitas* de cualquier tamaño, directamente a menos de 1 m

contagio directo, entre las que se deben incluir las *infecciones profesionales* (sífilis, hepatitis, brucelosis) y las *infecciones congénitas* transmitidas de la madre al feto a través de la placenta (sífilis, toxoplasmosis, rubeola, SIDA) o durante el parto (*ophtalmia neonatorum*, sepsis y meningitis neonatales por estreptococos del grupo B). También se incluye el contacto del susceptible con los productos del enfermo o portador (saliva, secreciones respiratorias, heces, orina) generalmente por medio de las manos, y puede establecerse la vía boca-(mano)-boca, para la transmisión de una gran variedad de infecciones respiratorias, y la vía intestino-(mano)-boca, de mayor importancia para la transmisión de las infecciones intestinales, especialmente entre las personas que cuidan los enfermos, pero que son más frecuentes por agua y alimentos contaminados.

Cuando el reservorio es *animal* (zoonosis), la infección también puede producirse por contacto directo con el animal o sus productos y excretas, como en la brucelosis, leptospirosis, psitacosis, etc.

Contacto indirecto. La transmisión puede realizarse a través de una tercera persona o por materiales contaminados.

En el primer caso, la transmisión se efectúa a través de una *persona que transporta los agentes infecciosos* desde la fuente de infección al huésped. Este mecanismo es muy frecuente en los hospitales, cuando el personal asistente contamina sus manos al cuidar a un enfermo y transmite su infección a otro.

También puede efectuarse a través de *materiales recientemente contaminados*. Los enfermos y portadores contaminan constantemente con sus manos, secreciones y excretas los objetos, utensilios y ropas que utilizan, que manipulados por otras personas los pueden a su vez contagiar. La contaminación salival u orofaríngea de pañuelos, botellas de refrescos, vasos, lápices, bolígrafos, reglas y gomas contribuyen a una gran variedad de procesos respiratorios por bacterias (estafilococos, neumococo, meningococo, enterobacterias) y sobre todo por virus (rinovirus, adenovirus, herpesvirus, virus de Epstein-Barr).

Por gotitas. Se consideran también por contagio directo las infecciones transmitidas por gotitas de cualquier tamaño, siempre que vayan directamente de la fuente de infección al susceptible, lo que exige su presencia a distancias menores de 1 metro. Son muy numerosas (resfriado común, gripe, sarampión, escarlatina, difteria, tos ferina, meningitis cerebrospinal epidémica).

En la transmisión por contacto, las *manos tienen una importancia epidemiológica fundamental* e intervienen en diversos mecanismos de transmisión (contacto directo e indirecto), pues tocan constantemente la propia piel y mucosas (ojos, nariz, oído y boca), y también la de otras personas al saludar, jugar o en las manifestaciones de cariño. Por otra parte, con las manos se tocan y manipulan los más variados objetos, productos y alimentos, y se establecen circuitos rápidos de contaminación y transmisión.

En otros casos, durante la transmisión, los microorganismos pueden permanecer fuera del organismo humano durante un período de tiempo que pueda producir variaciones en su poder patógeno y, en algunos casos, la desecación del producto, lo que supone cierta resistencia a los agentes externos. En estos casos, la persona susceptible se encuentra, por lo general, alejada de la fuente de infección, y puede efectuarse la transmisión por un vehículo común de infección (agua, alimentos, fomites), por vía aérea o por artrópodos.

Tabla 26-4. Vehículo común

Agua	*S. typhi, V. cholerae, Shigella*
Alimentos	*Brucella, Salmonella, E. coli* enterotóxicos y enteroinvasivos, virus de la hepatitis A
Sangre y derivados	VHB, *Plasmodium*, SIDA
Líquido de perfusión y fármacos	Bacilos gramnegativos

Por un vehículo de infección común (tabla 26-4)

En estos casos, la transmisión se produce a través de un vehículo, por lo general inanimado, que transporta la infección desde la fuente a múltiples huéspedes susceptibles. Los vehículos más importantes son el agua y los alimentos. El vehículo puede actuar pasivamente, cuando sólo transporta el agente infeccioso (agua y virus de la hepatitis A), o activamente, cuando, además, facilita su multiplicación (*Salmonella* y alimentos) y da lugar por lo general a un brote epidémico.

En relación con el agua es bien conocida la existencia de un grupo de infecciones y epidemias denominadas hídricas, porque el agua interviene en su transmisión (fiebre tifoidea, cólera, hepatitis), y la importancia del consumo de un agua segura sometida a técnicas de depuración e incluso el control del agua embotellada y de las bebidas refrescantes. En cuanto a los alimentos es conocida la transmisión, a través de la leche, carne y mariscos, de infecciones como la brucelosis, salmonelosis y hepatitis A. A este respecto son importantes la contaminación cruzada de los alimentos y el suministro colectivo de alimentos preparados, que junto a los procedimientos de cría intensiva de los animales de abasto por piensos compuestos explica el incremento del número de intoxicaciones alimentarias por *Salmonella*.

También hay que considerar la transmisión por sangre y derivados (hepatitis B, SIDA) y por diversos productos biológicos (líquidos de perfusión, fármacos), de importancia sobre todo en la infección hospitalaria.

Por vía aérea (tabla 26-5)

Se realiza por medio de partículas en suspensión en el aire que se transmiten a distancias mayores de 1 metro, lo que no exige la presencia de la fuente de infección. En estos casos, la transmisión se efectúa por núcleos de gotitas (aerosoles) y por el polvo. Al toser y estornudar se producen

Tabla 26-5. Vía aérea

Partículas en suspensión a distancias mayores de 1 m
Núcleos de gotitas de 1-5 μ
M. tuberculosis
H. capsulatum
C. psittaci
Polvo, partículas de 1-10 μ
C. tetani, estafilococos, enterobacterias, *C. burnetii*
Aerosoles de materiales infecciosos
Laboratorios, establos, mataderos (*C. tetani, C. burnetii*)

numerosas gotitas de saliva de 10 a 100 μ, que debido a su velocidad de emisión se desecan rápidamente y se forman núcleos de gotitas o aerosoles de tamaño inferior a 5 μ, constituidos por uno o varios gérmenes recubiertos de una fina película de saliva y moco, los cuales debido a su tamaño pueden permanecer en suspensión durante largo tiempo y ser trasladados a distancia (desde 1 m a varios kilómetros). El polvo está compuesto por partículas de tamaño inferior a 10 μ, constituidas por gotitas sedimentadas a las que se incorporan escamas de la piel, materiales y productos diversos, y puede ser movilizado por el viento y las corrientes de aire. Transmiten gérmenes que presentan cierta resistencia a la desecación, *M. tuberculosis*, enterobacterias, estafilococos, *C. tetani*, *C. burnetii*, *C. psittaci*, *Mycoplasma* y bacterias oportunistas.

La fuente de infección puede ser el hombre, al hablar, toser, estornudar y cantar. Un ejemplo típico es la tuberculosis, pues al toser se transmiten los gérmenes contenidos en el pulmón. También pueden ser los *animales* (psitacosis) y los *materiales inanimados*, como la producción de aerosoles en laboratorios y plantas de procesamiento de productos animales. Se ha descrito una epidemia de fiebre Q por aerosoles de *C. burnetii* que fueron transportados por el viento a 15 km de distancia y produjeron 75 casos. También el polvo puede transmitir y producir casos de tétanos y fiebre Q. Se han descrito diversas epidemias de *Legionella pneumophila* por aerosoles a partir de los depósitos de agua de los aparatos de refrigeración en hoteles y hospitales.

Por artrópodos

En la transmisión por artrópodos (tabla 26-6) éstos pueden actuar como vectores y transportar los gérmenes desde la fuente de infección al huésped. Se pueden distinguir dos clases:

Vectores pasivos o mecánicos. Cuando los artrópodos por contacto con el material infectante transportan los agentes infecciosos en su superficie (patas, artejos, trompa) o los albergan en su tubo digestivo, sin que se produzca su multiplicación. Es el clásico mecanismo de transporte de las heces a los alimentos por medio de las moscas (enterobacterias, enterovirus, virus de la hepatitis), mecanismo inespecífico que permite el transporte de cualquier microorganismo sin precisar un período de incubación externo en el vector.

Vectores activos o biológicos. Cuando los artrópodos ingieren el microorganismo infectante por picadura y son capaces de sufrir en su organismo cierta multiplicación (*Y. pestis* y pulgas), cumplir una fase de su ciclo evolutivo (*Filaria*) o ambas cosas a la vez (*Trypanosoma* y *Glosina*, *Plasmodium* y *Anopheles*). Es un mecanismo específico que requiere cierto período de tiempo antes de que el vector sea infeccioso (período de incubación externo).

Tabla 26-6. Artrópodos

Vectores pasivos o mecanicos	Transporte	Moscas y enterobacterias
Mecanismo inespecífico, que se produce de inmediato		
Vectores activos o biológicos	Multiplicación	Pulgas y *Y. pestis*
	Fase del ciclo	*Culex* y *Filaria*
	Ambos	*Anopheles* y *Plasmodium*
Mecanismo específico, que requiere cierto período de tiempo (período de incubación externo)		

Población susceptible

El resultado de la infección depende de diversos factores, en relación con el agente, como la puerta de entrada, dosis, poder patógeno y virulencia, pero fundamentalmente de la susceptibilidad del huésped que está condicionada por el estado de sus mecanismos de resistencia inespecíficos y el grado de inmunidad adquirida, ya sea de tipo humoral (anticuerpos) o de base celular (linfocitos sensibilizados).

En el plano colectivo y en relación con la inmunidad adquirida es muy importante conocer la proporción de susceptibles en la población, que cuando es elevada muchas veces condiciona la epidemiología de las infecciones en la zona. Por el contrario, cuando es baja y, además, se dan ciertas condiciones (infección por contacto directo, inexistencia de reservorios extrahumanos y de reinfecciones), puede producirse una inmunidad de grupo o de foco, como consecuencia de que la población inmune reduce las posibilidades de contacto entre infectados y susceptibles, e incluso llegarse a la erradicación de la enfermedad, como ha ocurrido con la viruela.

En el plano individual existen factores naturales o adquiridos que disminuyen la eficacia de los mecanismos de defensa y aumentan la susceptibilidad (edad, estado nutritivo, enfermedades, tratamientos, instrumentalización), y su concentración en centros asistenciales ha creado el problema de las infecciones hospitalarias o nosocomiales.

Otros factores epidemiológicos

Los *factores ambientales* pueden actuar sobre los tres eslabones de la cadena epidemiológica: sobre el agente, porque las condiciones climáticas (temperatura, humedad, radiaciones) influyen directamente en la supervivencia del agente infeccioso en el medio externo (suelo, agua, alimentos) o en el desarrollo de las fases del ciclo vital de algunos parásitos (*Ancylostoma*), y sobre los mecanismos de transmisión, porque las temperaturas elevadas, junto con las condiciones de sanidad ambiental inadecuadas, aumentan la eficacia de la transmisión por contacto y también por artrópodos al facilitar la biología del vector.

Por el contrario, sobre la susceptibilidad del huésped, su acción directa es mucho más discutida, pues, aunque se supone que el frío y la humedad disminuyen la resistencia a las infecciones respiratorias, las experiencias controladas en voluntarios no han permitido confirmar esta suposición. De la misma manera, aunque es muy probable que las variaciones estacionales están relacionadas con factores climáticos, su mecanismo de acción no se conoce con certeza. Tiene mayor importancia su acción indirecta sobre el comportamiento y costumbres del huésped, que facilitan o dificultan la exposición a los factores etiológicos, como los hábitos alimentarios y de higiene personal, la intimidad de los contactos, el vestido, la ocupación y las actividades recreativas. Así, en invierno, la mayor densidad de población y hacinamiento en transportes, colegios, universidades e industrias facilitan la transmisión por vía aérea, mientras que en

verano se facilita la transmisión por el agua (bebidas, baños), alimentos (helados, alimentos preparados, etc.) y artrópodos vectores (zonas de la piel descubiertas), y existe un mayor contacto con los animales.

También los *factores sociales y económicos* desempeñan un importante papel, pues es evidente que la escasez de medios y las condiciones deficitarias de educación facilitan la difusión de las enfermedades infecciosas. En los países en vías de desarrollo, las infecciones intestinales constituyen una de las causas más importantes de mortalidad en los niños menores de 5 años, en situación parecida a la que tenían los países desarrollados a comienzos de siglo. La solución de estos problemas está en relación con un mejoramiento de las condiciones de sanidad ambiental y hábitos de la población, que en último término depende de las condiciones sociales, culturales y económicas.

EPIDEMIOGENESIS

Definiciones

Se denomina *endemia* la «presencia habitual o prevalencia de una enfermedad en un área determinada en número no superior a la expectativa de la zona». Representa la persistencia del agente infeccioso en la población y, según que el número de casos sea bajo o más elevado, se habla de endemia o hiperendemia.

Epidemia es la «aparición, en un país, región o comunidad, de casos de una enfermedad en número claramente superior al esperado, de acuerdo con la experiencia anterior en la zona», lo que exige el conocimiento del número de casos presentes y anteriores (expectativa de la zona); en la gripe representa la presentación de un buen número de casos, mientras que bastan pocos casos de botulismo o sólo uno de una enfermedad cuarentenable, cuando la expectativa es muy baja o cero. Cuando la epidemia afecta varios países o continentes (gripe, cólera), se habla entonces de pandemia.

El término *brote epidémico* se aplica a «un aumento brusco e inesperado del número de casos, cuando están localizados en una zona circunscrita y en un corto período de tiempo». Generalmente aparece como consecuencia de factores epidemiológicos que han coincidido en la zona y puede presentarse como un fenómeno aislado (brote localizado), en el curso de un estado de endemia (endemoepidemia) e incluso en el de una epidemia, ya que, cuando ésta afecta una amplia zona geográfica o una gran ciudad, puede considerarse constituida por una suma de brotes localizados, que aparecen de forma simultánea o sucesiva en diferentes zonas o sectores de la población.

Comienzo y desarrollo

Las epidemias se *inician* como consecuencia de un desequilibrio en la relación bacteria-huésped, en especial por la aparición de un agente infeccioso con capacidad de difusión en una población susceptible o no inmune. Pueden ocurrir:

1. Por factores dependientes del agente: cuando el agente no es endémico en la población, por la llegada de un *nuevo agente* a partir de personas, animales, vectores o vehículos infectados (cólera, viruela, paludismo), y cuando existe un estado de endemia, por la presencia de factores que condicionan la difusión de un *nuevo serotipo* de composición antigénica diferente, que no presenta inmunidad cruzada con los serotipos circulantes (rinovirus, adenovirus, meningococo), o por fenómenos de *variación antigénica*, como ocurre con el virus gripal A.

En cualquiera de estos casos, la población se comporta como no inmune y se presentan las condiciones adecuadas para la producción de una epidemia.

2. Por factores dependientes del huésped, como consecuencia de la formación de una masa suficiente de susceptibles: por un mecanismo de aporte, de forma rápida, como la incorporación de nuevos reclutas a los campamentos de instrucción (brotes de la enfermedad respiratoria aguda por adenovirus) y la apertura de curso en las escuelas (virosis respiratorias agudas), o de forma progresiva por nuevos nacimientos e inmigración de otras zonas, como ocurre con los brotes polianuales de sarampión, rubéola y parotiditis, o por una disminución del grado de inmunidad adquirida, sobre todo de inmunidad local (IgA secretora), como ocurre en las infecciones por virus RS, parainfluenza y virus gripal, de manera que al cabo de varios años pueden producirse reinfecciones por el mismo virus.

El desarrollo de las epidemias depende fundamentalmente de la proporción de susceptibles, pero, además, está en relación con diversos factores que condicionan su velocidad de difusión (densidad de población, grado de saneamiento ambiental, factores climáticos, hábitos de la población y condiciones sociales y económicas).

Tipos de epidemias

Las epidemias en su evolución pueden responder a dos modalidades fundamentales:

Fuente común (brote holomiántico)

Se producen cuando, a partir de una misma fuente, la infección se transmite a numerosas personas en un corto período de tiempo. Por lo general se trata de infecciones transmitidas por vía digestiva, por consumo de agua o de alimentos contaminados por bacterias (fiebre tifoidea, cólera, toxiinfecciones alimentarias), virus (hepatitis A) o protozoos (disentería amebiana), y también por vía respiratoria cuando se produce un aerosol por manipulación y tratamiento de material infeccioso (tuberculosis, ornitosis, fiebre Q), por agua contaminada de acondicionadores de aire (*Legionella*) o por inoculación de productos biológicos contaminados (hepatitis B y SIDA).

1. Cuando la exposición es única o muy breve, se produce la transmisión casi simultánea del agente a un grupo de población. Los brotes se caracterizan por su comienzo explosivo, afectan a gran número de consumidores y cesan rápidamente sin tendencia a difundir en la población. Todos los casos se presentan en pocos días según las variaciones individuales del período de incubación máximo de la enfermedad.

2. Cuando la exposición es más prolongada (algunos días), el brote es de aparición menos brusca, los casos se presentan más repartidos en el tiempo y su duración puede ser algo mayor al período de incubación.

Las tasas de morbilidad varían según el vehículo; son bajas en los brotes hídricos por dilución de los microorganismos en el agua y más elevadas en los brotes lácteos. porque, al multiplicarse los gérmenes, aumenta la dosis afectándose con preferencia las mujeres y niños, y sobre todo en las toxiinfecciones alimentarias, ya que la dosis es muy elevada y se afectan la mayoría de comensales.

Cadena de infección (brote prosodémico)

Son epidemias que se transmiten de persona a persona, por contagio directo, indirecto o mediante un vector; son características de las infecciones muy difusivas que se transmiten por contacto y por vía aérea. En estos casos se produce un aumento progresivo del número de casos como consecuencia de la mayor probabilidad de infección de los susceptibles, hasta un máximo a partir del cual, cuando el número de susceptibles disminuye por debajo de un nivel crítico, se produce la declinación de la epidemia. A diferencia de las anteriores, la duración de la epidemia se extiende mucho más allá del período de incubación de la enfermedad.

La cadena de infección presenta múltiples ramificaciones y puede estar constituida exclusivamente por enfermos (sarampión), enfermos e infecciones inaparentes (difteria, gripe) o casi exclusivamente por formas inaparentes con muy pocos enfermos, que no se relacionan en el espacio ni en el tiempo; es la transmisión «a saltos» típica de la poliomielitis y meningitis cerebrospinal epidémica.

Por lo general se forman múltiples focos de infección, y se propaga cada uno en forma ramificada y radial. A veces se puede seguir la cadena de infección y se identifican generaciones sucesivas de casos, que están separados por un tiempo de generación, período comprendido entre el comienzo de la infección y el momento de máxima contagiosidad, distinto al período de incubación. Se ha estudiado el desarrollo de estas epidemias en el medio familiar, de manera que el primer caso que introduce la infección se denomina «caso índice» o «caso primario» y los casos que se presentan en los días siguientes y obedecen a una fuente extrafamiliar se denominan «casos coprimarios». Posteriormente puede aparecer una segunda generación de casos a partir del caso primario o de los casos coprimarios, son los «casos secundarios», e incluso, si quedan susceptibles, a partir de los casos secundarios se puede establecer una tercera generación o «casos terciarios». La contagiosidad de la infección se mide por la tasa de ataque secundario, que es el número de casos secundarios en relación con la población susceptible.

Mixta

A veces, las epidemias adoptan un *tipo mixto*, como ocurre con la fiebre tifoidea, cuando por contaminación accidental de un abastecimiento de aguas se produce un brote holomiántico y, más tarde al final del brote, se continúa la transmisión por contacto.

Terminación

La terminación o extinción de las epidemias se produce, en los brotes holomiánticos, cuando desaparece la causa del contagio, por tratarse de una contaminación accidental o procederse rápidamente a la depuración de las aguas, higienización de la leche o control de los alimentos; en los brotes prosodémicos depende del agotamiento de la población susceptible, y se ha observado que, a medida que aumenta la proporción de inmunes, se dificulta la transmisión en los susceptibles, hasta que prácticamente se interrumpe; es la «inmunidad de grupo», que se establece cuando se ha llegado a una cifra crítica de inmunización, distinta para cada enfermedad.

Periodicidad

Son variaciones periódicas en la frecuencia de aparición de las enfermedades transmisibles. Pueden ser:

Estacionales

Se presentan en aquellas infecciones que tienen una época anual de máxima incidencia, por su relación directa o indirecta con factores climatológicos. Así, en verano se observan con mayor frecuencia las infecciones hídricas, toxiinfecciones alimentarias y transmitidas por artrópodos (a excepción de piojos); en invierno, las infecciones respiratorias; en primavera, el sarampión, tos ferina y meningitis, y, en otoño, las infecciones faríngeas, difteria y escarlatina.

Polianuales

Están en relación con la proporción de población receptiva y aparecen a intervalos distintos para cada enfermedad, con tendencia a hacerse más prolongadas: cada 2-3 años para el sarampión y tos ferina, 6-7 años para la escarlatina y más de 10 años para las pandemias de gripe.

Seculares

Son variaciones en la frecuencia y mortalidad de una enfermedad infecciosa que se producen muy lentamente a lo largo del tiempo, como la evolución de la mortalidad en la tuberculosis, la lenta disminución de la fiebre tifoidea, etc. Son debidas a aumentos en la resistencia del huésped en las generaciones sucesivas (factor genético) y a una mejor adaptación de los microorganismos a la vida parasitaria.

EPIDEMIOLOGIA HOSPITALARIA

Infecciones hospitalarias o nosocomiales son aquellas que los enfermos adquieren en el propio hospital o centro asistencial, y se manifiestan durante el período de hospitalización o más tarde en su propio domicilio. No se incluyen las infecciones que se encuentran en período de incubación en el momento del ingreso y se manifiestan en las primeras 72 horas.

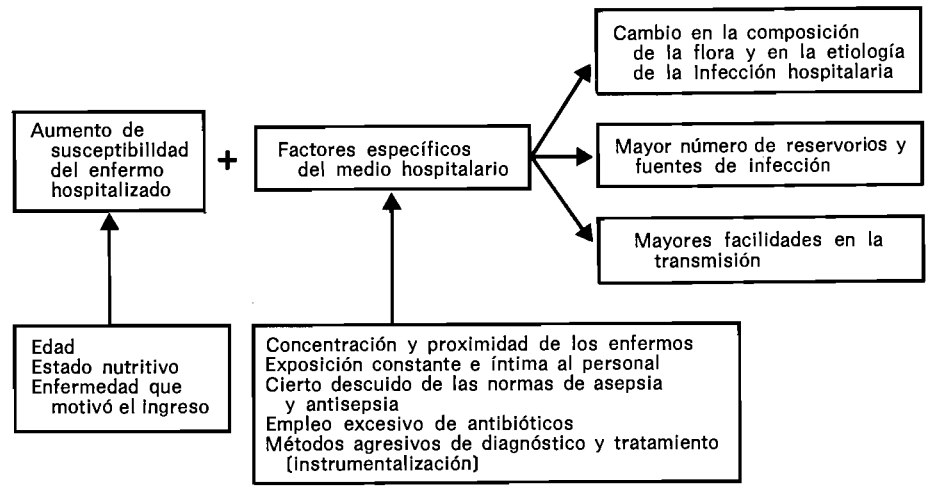


Fig. 26-1. Factores de las infecciones hospitalarias.

El hospital constituye un medio ambiente adecuado para el desarrollo y difusión de las infecciones, que se pueden presentar en forma endémica o epidémica en la mayoría de enfermos. La epidemiología de las infecciones hospitalarias es compleja e imperfectamente conocida. El factor fundamental es el incremento de susceptibilidad del enfermo hospitalizado, que junto con los factores específicos del hospital han condicionado: *a)* un cambio en la etiología de estas infecciones y en la composición de la flora hospitalaria; *b)* un mayor número de reservorios y fuentes de infección, y c) mayores facilidades de difusión y transmisión en el medio hospitalario (fig. 26-1).

Susceptibilidad del huésped

Las infecciones hospitalarias están condicionadas fundamentalmente por factores que afectan al huésped, y su frecuencia ha aumentado como consecuencia de los avances tecnológicos y terapéuticos, que, si bien han facilitado la prolongación de la vida de los enfermos, por otra parte, han comprometido sus mecanismos de defensa frente a las enfermedades infecciosas, tanto los mecanismos naturales de resistencia como los de inmunidad adquirida. En general, los enfermos hospitalizados presentan una mayor susceptibilidad a la infección debido a la existencia de factores que dependen: *a)* del enfermo, como la edad, estado nutritivo y la enfermedad que motivó su ingreso; *b)* de las técnicas instrumentales que se aplican, y c) del tratamiento a que han sido sometidos. Estos factores actúan produciendo:

Alteraciones anatómicas. En el epitelio cutaneomucoso (barreras externas) o en tejidos profundos que facilitan la penetración y multiplicación de los gérmenes y, por tanto, el establecimiento de la infección. Ocurren en los enfermos tributarios de intervenciones quirúrgicas (heridas) o de técnicas instrumentales (respiradores, equipos de anestesia y endoscopia). Un caso particular lo constituye cuando se implantan en el organismo, con carácter temporal o permanente determinados biomateriales, como catéteres, prótesis articulares o vasculares, clavos de fijación, válvulas artificiales, marcapasos, etc. En este caso, como consecuencia de sus características (estructura, composición, hidrofobicidad) pueden fijar algunas bacterias (estafilococos coagulasa-negativos) procedentes del propio material o de bacteriemias transitorias que se multiplican y sintetizan polímeros extracelulares (glicocálix, capa mucosa), dando lugar a microcolonias rodeadas de una capa mucosa muy adherente, que las protege de los mecanismos naturales de defensa y antibióticos. Se produce por lo general una infección que persiste durante mucho tiempo hasta que se eliminan estos materiales.

Alteraciones del sistema inmunitario (inmunodepresión). Pueden afectar: *a)* los mecanismos celulares, en especial la fagocitosis, por disminución del número de granulocitos o alteración de su función (agranulocitosis, leucemias agudas, leucemias mieloides crónicas, estados de acidosis o administración de corticoides); *b)* los mecanismos de inmunidad humoral (hipo o agammaglobulinemias, leucemias linfoides crónicas, mielomas, quemaduras o la administración de inmunodepresores), o c) los mecanismos de inmunidad celular (linfomas, enfermedad de Hodgkin, tumores generalizados, sarcoidosis, la administración de fármacos citotóxicos o suero antilinfocitario).

Alteraciones de la flora microbiana normal del huésped. La administración de antimicrobianos es uno de los factores más importantes, ya que, además de actuar sobre los gérmenes patógenos susceptibles, elimina los gérmenes susceptibles de la flora normal y crea un vacío ecológico que favorece la colonización por cepas exógenas o endógenas resistentes y, además, facilita la infección de los tejidos lesionados, que en estas condiciones se puede producir con una dosis infectiva menor (superinfección). El empleo excesivo e incontrolado de antibióticos en los hospitales, en especial de amplio espectro o a grandes dosis, muchas veces sin una verdadera indicación que lo justifique (quimioprofilaxis, terapéutica de cobertura, combinación de antibióticos), es la causa principal del aumento de frecuencia de cepas resistentes y multirresistentes, e incluso de la aparición de cepas resistentes a la mayoría de antibióticos de uso frecuente, así como del incremento de infecciones y brotes hospitalarios, que en ocasiones se presentan en el curso de la antibioterapia.

La actuación de estos factores ha aumentado la susceptibilidad del enfermo, que puede ser moderada cuando sólo

se alteran las barreras mecánicas o la flora normal, más intensa cuando se afecta el sistema inmunocompetente o muy elevada cuando concurren varios de estos factores o actúan con especial intensidad; son los *enfermos comprometidos* que presentan un riesgo muy elevado y constante de infección incluso por los componentes de la propia flora. Los enfermos más susceptibles se concentran en *áreas críticas* del hospital, como las unidades de cuidados intensivos, reanimación, cirugía, urología, hemodiálisis, prematuros, recién nacidos, etc.

Etiología de la infección hospitalaria

Esta mayor susceptibilidad del huésped ha condicionado que las infecciones hospitalarias puedan ser producidas por una flora heterogénea y cambiante, integrada no sólo por los patógenos primarios (*S. aureus, Streptococcus* del grupo A, *S. pneumoniae, E. coli, Salmonella, Shigella, Clostridium*, virus respiratorios y virus de la hepatitis A y B), sino por una gran variedad de patógenos potenciales u oportunistas, que forman parte de la flora normal del organismo o se comportan como saprofitos del medio ambiente y son capaces de colonizar el organismo y producir infecciones cuando actúan estos factores. El grupo más importante está constituido por los bacilos gramnegativos (*Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus, Pseudomonas, Acinetobacter*), seguidos de las bacterias grampositivas (*S. epidermidis, Streptococcus* del grupo D, *Listeria*), anaerobios (en especial *Bacteroides*), protozoos (*Pneumocystis, Toxoplasma*), virus (herpesvirus, citomegalovirus) y hongos (*Candida, Aspergillus* y *Mucor*), grupo que se encuentra en constante aumento (*Nocardia, Flavobacterium, Aeromonas, Mycobacterium, Legionella*, etc.).

Estos microorganismos presentan una gran capacidad de adaptación y, por el mecanismo de la mutación y selección frente a la presión selectiva del medio, han dado lugar a la aparición de mutantes más resistentes a los agentes externos y a los antibióticos, con una mayor capacidad de supervivencia en el medio ambiente y en los enfermos hospitalizados, lo que ha producido la sustitución progresiva de la flora hospitalaria sensible por estos microorganismos oportunistas más resistentes cuyo predominio varía según las condiciones existentes en los diferentes hospitales y aun en los servicios de un mismo hospital.

Mientras que en el pasado los estreptococos del grupo A constituyeron una de las grandes causas de infección hospitalaria, en la década de los 50 fueron sustituidos por los estafilococos, y éstos, a su vez, a partir de 1960 fueron sobrepasados por los bacilos gramnegativos. De esta manera se ha producido un cambio radical en la etiología de la infección hospitalaria, que de los gérmenes patógenos clásicos ha pasado a un neto predominio de los oportunistas. En la actualidad, los bacilos gramnegativos intervienen en el 60-70 % de estas infecciones, seguidos por las bacterias grampositivas (20-30 %) y, en menor proporción, por otras bacterias, hongos y protozoos. Los virus pueden producir brotes epidémicos en salas de lactantes (virus RS, parainfluenza) o de adultos (virus de la hepatitis B), especialmente en enfermos inmunodeprimidos (citomegalovirus, herpesvirus), que pueden ser causa de elevada mortalidad (virus gripal). Las infecciones hospitalarias son en su mayoría infecciones del tracto urinario (30-40 %), de las heridas quirúrgicas (20-25 %), del aparato respiratorio (15-20 %), de la piel y del tejido celular subcutáneo, y bacteriemias, en menor proporción.

Fuentes de infección

Según la fuente, las infecciones hospitalarias pueden clasificarse en 3 grandes categorías (tabla 26-7):

1. *Infecciones exógenas*, cuando los microorganismos proceden de una fuente exterior al enfermo, casi siempre intrahospitalaria, por lo general a partir de otros enfermos, personal del hospital, visitantes y fomites. También se denominan infecciones cruzadas porque en su mayoría son infecciones de persona a persona.
2. *Infecciones endógenas*, cuando los microorganismos proceden del propio enfermo. Son las infecciones de tejido a tejido o autoinfecciones. En estos casos, por lo general se presenta algún factor que aumenta la susceptibilidad del huésped a los componentes oportunistas de su propia flora.
3. *Infecciones exoendógenas*, cuando los microorganismos procedentes de una fuente exterior, en una primera fase, colonizan al enfermo y se incorporan a su flora normal, y, más adelante, a consecuencia de factores diversos, se produce una infección endógena a partir de estos mismos microorganismos. Se consideran especialmente frecuentes en las infecciones hospitalarias.

Como en estas dos últimas categorías de infección hospitalaria es muy difícil llegar a conocer si los microorganismos ya formaban parte de la flora normal antes de su ingreso (infecciones endógenas) o fueron adquiridos en el propio hospital (infecciones exoendógenas), hoy se tiende a unificarlas con la denominación de infecciones autógenas.

Las fuentes de infección están constituidas principalmente por el hombre y los medios inanimados.

El hombre. Actúa como fuente de infección cuando padece una enfermedad infecciosa o es portador; cabe destacar a este respecto a los enfermos hospitalizados, personal asistencial y visitantes, cuando están afectados de infecciones leves de la piel, aparato respiratorio o digestivo.

Por otra parte, existen portadores de microorganismos patógenos (*S. aureus, Streptococcus* del grupo A, *Salmonella*), cuya eficacia, al igual que en la comunidad, está en relación con su capacidad de diseminación. Además, hay que tener en cuenta que la mayoría de enfermos y del personal pueden estar colonizados por uno o varios microorganismos patógenos potenciales. En este caso deben considerarse como portadores de oportunistas, siendo muy importante mentalizar al personal para que adopte de forma habitual

Tabla 26-7. Fuentes de infección

Infecciones exógenas o cruzadas
Patógenos estrictos (fuente humana)
Oportunistas vida libre (fuente ambiental)
Infecciones endógenas o autoinfecciones
Patógenos latentes
Oportunistas de la flora
Infecciones exoendógenas o mixtas
Oportunistas multirresistentes

aquellas medidas higiénicas que permitan interrumpir la transmisión.

Medios inanimados. Tienen una gran importancia en los hospitales, pues no sólo permiten la supervivencia de los oportunistas y facilitan su transmisión, sino que muchas veces actúan como amplificadores numéricos, puesto que, debido a las escasas exigencias nutritivas de estos microorganismos y relativa resistencia a los agentes ambientales, pueden multiplicarse en determinados medios líquidos, que se comportan como reservorios y a partir de los cuales se produce su difusión secundaria. En este caso se encuentran los bacilos gramnegativos, que se desarrollan bien en lugares húmedos y algunas colecciones líquidas (depósitos de agua de suministro, agua destilada, lociones diversas e incluso soluciones de desinfectantes, sobre todo cuando se conservan durante algún tiempo) y en el agua contenida en diversos aparatos (desionizadores, descalcificadores, humidificadores, nebulizadores, respiradores, equipos de diálisis y de hidroterapia). También se han encontrado contaminados productos comerciales estériles (líquidos de perfusión, anestésicos y diversos medicamentos).

Mecanismos de transmisión

La transmisión en el hospital se efectúa de ordinario por contacto, por una fuente o vehículo de infección común, o por vía aérea, pues los artrópodos tienen una importancia mucho menor.

Contacto (directo, indirecto o por gotitas). También se denomina de persona a persona. Tienen la mayor importancia en el hospital las manos y materiales inanimados.

Manos. Las manos del personal se encuentran frecuentemente contaminadas y constituyen la fuente de infección por estar enfermo, ser portador de patógenos u oportunistas (personal colonizado) o simplemente porque transportan los agentes infecciosos (portadores transitorios no colonizados). Este mecanismo se considera como el más importante en la transmisión de la infección de un enfermo a otro del hospital, incluso en las salas de aislamiento. Por exámenes bacteriológicos seriados se ha determinado la presencia de forma temporal de bacilos gramnegativos en las manos del personal del hospital y de *S. aureus* en el 60 %, lo que demuestra la importancia del lavado de manos, realizado de forma habitual, o el empleo de guantes estériles desechables.

Materiales inanimados. Hemos de considerar como más importantes la mayoría de instrumentos y aparatos que se emplean para el diagnóstico y tratamiento de los enfermos, sobre todo cuando entran en contacto con la piel y mucosas alteradas o se introducen en cavidades de forma temporal o semipermanente (catéteres urinarios e intravenosos, respiradores, equipos de hemodiálisis, anestesia, endoscopia), pues, además de comportarse como fuentes de infección o reservorios, facilitan la transmisión y penetración (puerta de entrada) e incluso un lugar de multiplicación y colonización al abrigo de los mecanismos de defensa (nicho ecológico).

También se han encontrado contaminados la ropa de cama (95 % por *S. aureus*), el servicio de mesa, lavabos, baños, tapones de drenaje y pomos de las puertas.

Por otra parte, entre las infecciones por contacto directo hay que destacar las *infecciones congénitas*, por su importancia en el hospital (*Streptococcus* del grupo B, *Salmonella, Listeria, N. gonorrhoeae, C. trachomatis*, herpesvirus). Se conoce que la colonización vaginal de la embarazada por estreptococos del grupo B predispone a la aparición de meningitis y sepsis neonatales; la infección por herpesvirus tipo 2 representa un riesgo elevado de infección herpética en el recién nacido.

Vía aérea. Aunque el aire en los hospitales se contamina a partir de los núcleos de gotitas emitidas por enfermos y portadores y por la movilización del polvo, que pueden ser transportados a otras habitaciones o salas del hospital, su importancia como mecanismo de transmisión queda limitado a un grupo reducido de patógenos que son más resistentes a los agentes externos (*M. tuberculosis*, virus de la gripe, varicela y viruela, y hongos del género *Aspergillus*). La transmisión de estafilococos y estreptococos es mucho menos importante que por contacto. Se ha observado que la desinfección del aire por rayos UV en los quirófanos, que reduce considerablemente el número de bacterias viables en el aire, apenas disminuye la proporción de infecciones de las heridas.

Vehículo común. Transporta los microorganismos a diversos pacientes y es la causa de aparición de brotes epidémicos, que se pueden producir por el *agua y alimentos*, a través de bebidas, biberones y comidas, sin olvidar que no sólo por vía digestiva, sino por la vía aérea, se produce el ingreso de la flora hospitalaria y la posible colonización de las mucosas. Pero también tiene importancia la transmisión por *sangre y derivados, soluciones de antisépticos* contaminadas, *productos comerciales estériles*, como líquidos de perfusión, anestésicos o medicamentos diversos contaminados en origen, y diversos aparatos, como respiradores y sistemas de monitorización.

Microorganismos del propio paciente. Pero, además, hay que tener en cuenta que cierto número de infecciones en el hospital son producidas por microorganismos de la flora del propio paciente (infecciones autógenas) como consecuencia de una alteración de los mecanismos de defensa. En estos casos, los métodos de exploración y tratamiento en el hospital pueden facilitar el transporte de los microorganismos de su nicho ecológico a otros tejidos, donde pueden producir una infección. Ocurre con los catéteres, que facilitan el paso de gérmenes de la piel a la vejiga, o en las intervenciones en cirugía abdominal, con paso de gérmenes al peritoneo. En estos casos, las medidas de profilaxis dependen de la eliminación de la flora comensal del enfermo, del mejoramiento de los mecanismos naturales de defensa y del empleo de la más rigurosa técnica aséptica en la utilización de los métodos de exploración y tratamiento.

Descuido de las normas de asepsia y antisepsia

La gran eficacia de los antibióticos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas ha hecho que no se concediera la importancia debida a la enseñanza y aplicación rigurosa de una serie de medidas de profilaxis de exposición, como el empleo del método aséptico en las áreas críticas, las medidas de aislamiento tanto para los enfermos contagiosos como para los inmunodeprimidos (aislamiento inver-

so) e incluso las normas de higiene individual en relación con el lavado de las manos, la manipulación del material estéril y la aplicación y control de los antisépticos, lo que ha facilitado la difusión y transmisión de microorganismos patógenos y oportunistas por mecanismos diversos, y ha constituido uno de los factores que han provocado el incremento de las infecciones hospitalarias.

ESQUEMA DE PROFILAXIS GENERAL

La prevención de las enfermedades transmisibles comprende dos tipos de medidas generales: *a)* profilaxis general o de exposición, constituida por las medidas que tienden a evitar la llegada de los agentes infecciosos a la población susceptible e incluyen las que están contra la fuente de infección y mecanismos de transmisión, y *b)* profilaxis específica o de disposición, compuesta por las medidas de protección de la población susceptible, de manera que, aunque el contagio se produzca, se pueda evitar la aparición de la enfermedad.

Lucha contra la fuente de infección

Se refiere a los enfermos, portadores o animales reservorios.

Hombre enfermo. Las medidas se basan en:

1. Diagnóstico precoz.
2. Declaración obligatoria de las enfermedades infecciosas, para informar a las autoridades sanitarias nacionales de su aparición y frecuencia, lo que permite adoptar las medidas adecuadas para evitar su difusión. La declaración debe ser internacional cuando se trata de enfermedades cuarentenarias, como el cólera y la fiebre amarilla.
3. Aislamiento durante el período de contagio, en el domicilio del enfermo o en salas u hospitales de enfermedades infecciosas.
4. Desinfección concurrente o final de las secreciones, excretas, ropas y objetos contaminados por el enfermo.
5. Tratamiento específico y esterilizante con antimicrobianos hasta obtener la curación clínica y bacteriológica.

Portadores. En algunas enfermedades tienen especial importancia y debe procederse a su detección y tratamiento. Son especialmente peligrosos los manipuladores de alimentos, y ha de procederse al diagnóstico bacteriológico, separación temporal de la manipulación del alimento y tratamiento esterilizante.

Animales. En algunos casos puede procederse a la destrucción del reservorio animal (desratización, perros rabiosos), pero, en otros casos, como en la brucelosis, se puede intentar su separación de la producción de leche (vaca), aislamiento y tratamiento adecuado.

Lucha contra los mecanismos de transmisión

La transmisión por contacto es muy difícil de evitar; se limita a medidas de higiene individual, de educación sanitaria (lavado frecuente de las manos, pañuelo delante de la boca al toser y estornudar, higiene sexual, etc.) y de desinfección de los objetos y productos contaminados. La transmisión por vía aérea es muy difícil de interrumpir, se emplean medidas de desinfección del aire (rayos UV, glicoles, β-propiolactona) y aquellas que impiden la movilización del polvo (aspiradores, limpieza en húmedo, pulverización con sustancias aceitosas, desinfectantes, etc.), y se debe evitar en lo posible la aglomeración de personas susceptibles. La transmisión por vía hídrica y por los alimentos se dificulta mediante la instalación de abastecimiento de agua potable, depuración de aguas residuales, pasteurización de la leche y medidas del control sanitario de los alimentos (verduras crudas, crustáceos, carnes preparadas, conservas). La transmisión por artrópodos se combate mediante prácticas de desinsectación, eliminando los insectos en su fase larvaria o en la de insecto adulto.

Protección de la población susceptible

Se realiza creando un estado de inmunidad específica mediante el empleo de vacunas, sueros o inmunoglobulinas (bioprofilaxis) o por la administración de antimicrobianos (quimioprofilaxis) cuando existe peligro inminente de contraer la enfermedad, como la administración de sulfamidas para prevenir la aparición de disentería bacilar, rifampicina para la meningitis cerebroespinal epidémica en los contactos familiares, penicilina para la fiebre reumática, estreptomicina (peste neumónica), cloroquina (paludismo), etc.

BIBLIOGRAFIA

Armijo Rojas, R.: Epidemiología Intermédica, Buenos Aires, 1978.

Badger, C. F.; Dingle, J. H.; Feller, A. E.; Hodges, R. G.; Jordan, W. S., y Kammelkamp, C. H.: A study of illness in a group of Cleveland families. Am. J. Hyg., 58, 41-48, 1953.

Brachman, P. S.: Epidemiology. En Top, F., y Wehrle, P. (dirs).: Communicable and Infectious Diseases. C. V. Mosby, Saint Louis, 1976.

Evans, A. S.: Epidemiological Concepts and Methods. Surveillance and Seroepidemiology. En Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control. Wiley, London, 1976.

Fox, J. P.; Hall, C. E., y Elveback, L. R.: Epidemiology, Man and Disease. Macmillan, London, 1970.

Hendley, J. O.; Wenzel, R. P., y Gwaltney, J. M.: Transmission of rhinovirus colds by self-induction. N. Engl. J. Med., 288, 1361-1364, 1973.

Horstman, A. M.; Liebhaber, H.; Le Bouvier, G. L.; Rosenberg, A. A., y Halstead, S. B.: Rubella; Reinfection of vaccinated and naturally immune persons exposed in an epidemic. N. Engl. J. Med., 283, 771-778, 1970.

Knight, V.: Viral and Mycoplasma Infections of the Respiratory Tract. Lea and Febiger, Philadelphia, 1973.

Mason, J. O., y McLean, N. R.: Infectious hepatitis traced to consumption of raw oysters: An epidemiologic study. Am. J. Hyg., 75, 90-111, 1962.

Mosley, J. N.: Epidemiology. En Hoeprich, P. D. (dir.): Infectious Diseases. Harper and Row, Hagerstown, 1977.

Organización Panamericana de la Salud: El control de las enfermedades transmisibles en el hombre, 10.ª ed. Oficina Sanitaria Panamericana, Organización Mundial de la Salud, Washington, 1965.

Paul, J. R.: Clinical Epidemiology. University of Chicago Press, Chicago, 1966.

Piédrola, G., y cols.: Medicina preventiva y social, higiene y sanidad ambiental. Amaro, Madrid, 1975.

Pumarola, A.: Epidemiología. En Matilla, V., y cols. (dirs.): Microbiología y parasitología, 2.ª ed. Amaro, Madrid, 1969.

Parte IV

Bacteriología sistemática

Capítulo 27

Staphylococcus

Agustín Pumarola

Los cocos grampositivos aerobios y anaerobios facultativos, según su forma de división y agrupación, se integran en dos familias (*Micrococcaceae* y *Deicrococcaceae*) y otros géneros con personalidad propia como el género *Streptococcus*. La familia *Micrococcaceae* que tiene interés médico incluye aquellos que se agrupan de forma irregular o en tetradas, y está constituida por los géneros *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Planococcus* y *Stomatococcus*.

Los cocos grampositivos anaerobios se incluyen en los géneros *Peptococcus*, *Peptoestreptococcus*, *Ruminococcus* y *Sarcina*.

Los cocos grampositivos aerobios y anaerobios facultativos de interés médico están en los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*, que a su vez comprende el neumococo (*S. pneumoniae*).

CONCEPTO Y CLASIFICACION

Concepto

Los estafilococos (del griego *Staphile* = racimo) son cocos grampositivos de 0,5-1 µm de diámetro, inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos, caracterizados en que se agrupan de forma irregular en racimo (fig. 27-1), producen catalasa y descomponen los azúcares por fermentación (tabla 27-1). Son bacterias poco exigentes, que se cultivan fácilmente en medios comunes y presentan cierta resistencia a los agentes externos, por cuyo motivo se pueden encontrar en la naturaleza, especialmente en el medio ambiente que rodea al hombre, formando parte de la flora normal de la piel y mucosas e interviniendo en procesos patógenos diversos, sobre todo en infecciones supuradas e intoxicaciones alimentarias.

Clasificación

Se pueden distinguir las siguientes especies (tabla 27-2):

1. *S. aureus*, prototipo de los estafilococos patógenos. Es el agente causal de la mayoría de infecciones; se caracteriza por producir coagulasas o fermentar el manitol, elaborar diversas toxinas, en especial la toxina α, y sintetizar en su mayoría un pigmento amarillo dorado, no difusible, que colorea las colonias.

2. *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*, prototipos de los estafilococos oportunistas. Son gérmenes comensales de la piel o libres en el medio ambiente, que en ocasiones pueden intervenir en procesos patógenos. Se caracterizan por no producir coagulasas ni toxina α, no fermentar el manitol y elaborar en su mayoría un pigmento blanco aporcelanado (*S. albus*).

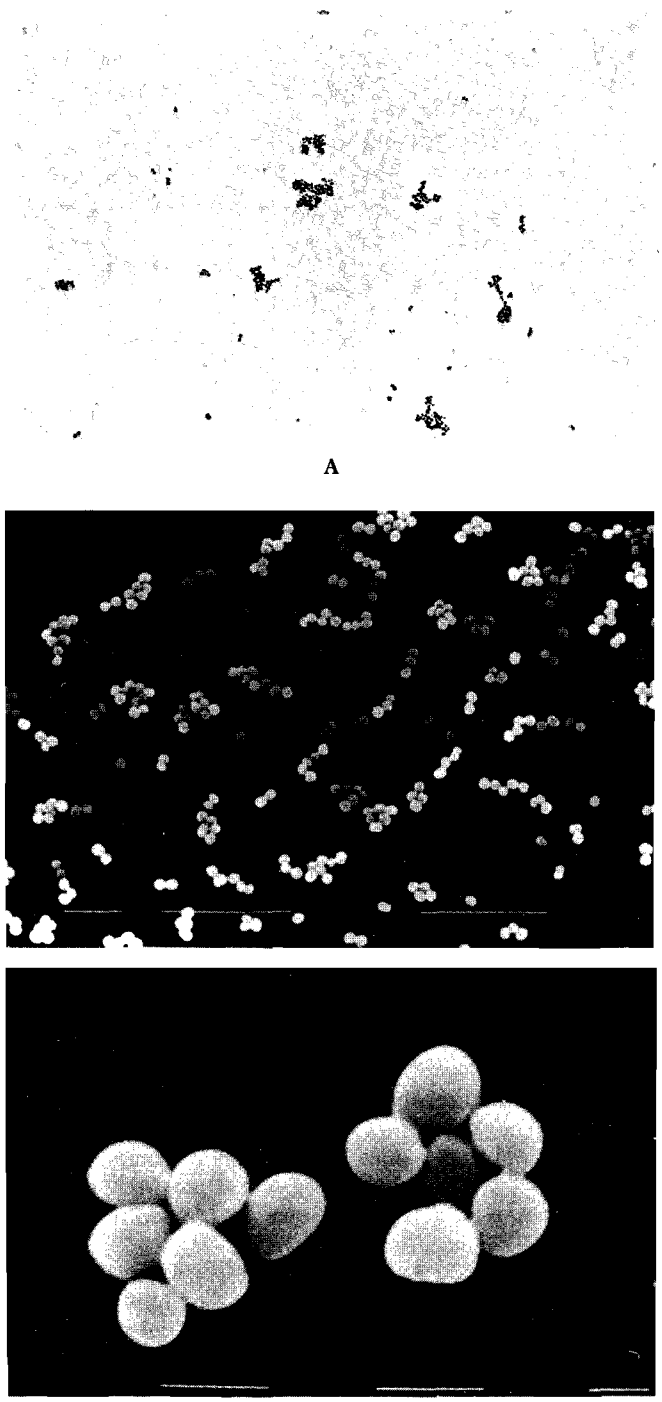
La importancia de los estafilococos deriva de su aumento progresivo de resistencia a los antibióticos, sobre todo en el medio hospitalario, que junto con su resistencia a los agentes externos les permite difundir y producir infecciones y brotes epidémicos (infecciones hospitalarias), que plantean serios problemas epidemiológicos y terapéuticos.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Estructura antigénica y clasificación en tipos

La estructura antigénica de *S. aureus* es compleja y mal conocida. En la *pared celular* se han demostrado cerca de 30 antígenos, y los más importantes son (de dentro a fuera):

1. El polisacárido A, específico de especie, constituido por ácidos teicoicos, polímeros de fosfato de ribitol, que están unidos al peptidoglicano por enlaces covalentes. Son antigénicos e inducen la aparición de anticuerpos, y se ha demostrado un aumento de anticuerpos antirribitol en los casos de endocarditis estafilocócica. En *S. epidermidis*, los ácidos teicoicos son polímeros de fosfato de glicerol y en *S. saprophyticus*, polímeros de fosfato de ribitol. Los bacteriófagos se fijan en esta capa.
2. La proteína A, específica de especie, se encuentra en la pared celular y puede liberarse en el medio. Presenta la propiedad de unirse a la extremidad Fc de las IgG normales y a la extremidad $F(ab)_2$ de las IgG específicas, así como de activar el complemento.
3. Existen, además, en la pared celular un número indeterminado de proteínas responsables de la tipoespecificidad.
4. También se han aislado cierto número de cepas mucoides *capsuladas*, especialmente en los animales, cuya composición e importancia no se conocen.



A

B

Fig. 27-1. Cultivo de estafilococos. Agrupación irregular o en racimo. A) Microscopio ordinario (× 1.000). B) Microscopio electrónico: 1) × 2.500; 2) × 20.000.

La especie *S. aureus* se caracteriza por la presencia de ácidos teicoicos, polímeros de fosfato de ribitol (polisacárido A) y proteína A. Pero, además, por sus antígenos tipoespecíficos se ha podido subdividir en tipos siguiendo dos criterios: *a)* En serotipos, mediante el empleo de sueros tipoespecíficos, y se ha clasificado en 18 serotipos. *b)* En fagotipos o lisotipos, por el estudio de la sensibilidad de la cepa frente a un grupo de fagos seleccionados. Se conocen más de 100 fagotipos que por necesidades prácticas se han reunido en 4 grupos y un grupo no clasificado (tabla 27-3).

Los serotipos 1, 2 y 3 se corresponden en líneas generales con los fagogrupos I, II y III. Es interesante señalar que en los tres primeros fagogrupos se encuentran la mayoría de las cepas patógenas para el hombre: en el grupo II, cepas extrahospitalarias y productoras de toxina exfoliativa y, en el grupo III, la mayoría de cepas multirresistentes a los antibióticos, las productoras de enterotoxina y de origen animal.

Como el serotipo y el fagotipo son caracteres genéticos estables, se utilizan con fines epidemiológicos sobre todo en el medio hospitalario, pues la mayoría de infecciones y brotes epidémicos están producidos por cepas multirresistentes a los antibióticos pertenecientes a determinados serotipos o fagotipos.

Tabla 27-1. Familia Micrococcaceae (caracteres diferenciales)

Caracteres	*G. Staphylococcus*	*G. Micrococcus*
Cocos gram +, catalasa +	+	+
Agrupación en racimo	+	+
Agrupación en tétradas	−	±
Crecimiento en anaerobiosis	+	−
Fermentación de la glucosa	+	−
Resistencia a la lisostafina	−	+
Producción de ácido en aerobiosis a partir del glicerol en un medio con eritromicina (0,4 µg/ml)	+	−

Tabla 27-2. Genero Staphylococcus (caracteres diferenciales)

Caracteres	*S. aureus*	*S. epidermidis*	*S. saprophyticus*
Coagulasa	+	−	−
Fermentación manitol	+	−	−
Toxina α	+	−	−
ADNasas termoestables	+	−	−
Proteína A	+	−	−
Acidos teicoicos			
Fosfato de ribitol	+	−	+
Fosfato de glicerol	−	+	±
Sensibilidad a la novobiocina	+	+	−

Tabla 27-3. Staphylococcus aureus. Clasificación en fagogrupos y lista de fagos seleccionados para la fagotipia

Grupo	Fago								
I	29	52	52A	79	80				
II	3A	3B	3C	55	71				
III	6	7	42E	47	53	54	75	77	83A
IV	42D								
No clasificados			81	187					

Acción patógena

Es debida fundamentalmente a la acción de antígenos de superficie, toxinas y fermentos.

Antígenos de superficie

Los antígenos superficiales de la pared celular y la cápsula tienen propiedades antifagocitarias. La proteína A presenta la propiedad de combinarse con el fragmento Fc de las IgG y es responsable de su acción antifagocitaria al impedir la fijación de las IgG en los receptores del fagocito (fig. 27-2); además, el complejo proteína A + IgG activa el complemento y produce la liberación de factores quimiotácticos (C5a), que contribuyen al carácter piógeno de las lesiones estafilocócicas.

Por otra parte, el complejo estafilococo + IgG, que deja libre el fragmento $F(ab)_2$, hace que éste pueda combinarse con su antígeno específico, lo que produce la aglutinación de los estafilococos (coaglutinación), fenómeno que se utiliza como revelador o indicador de la reacción Ag-Ac (fig. 27-3). Se emplea para la identificación de otras especies bacterianas (estreptococos del grupo B, gonococos).

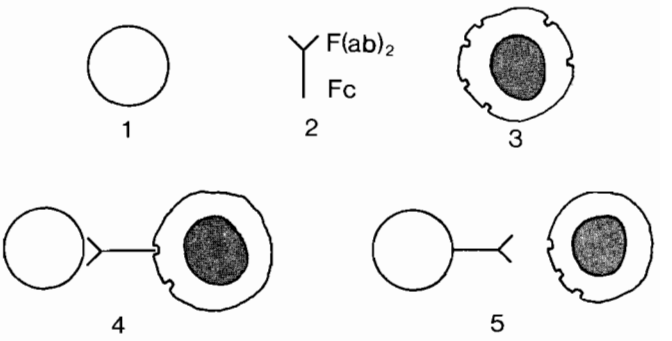


Fig. 27-2. Acción antifagocitaria de la proteína A. 1, Estafilococo. 2, Anticuerpos antiestafilocócicos (IgG). 3, Macrófagos con receptores para el fragmento Fc de las IgG. 4, Fijación específica ($F[ab]_2$ = sensibilización a la fagocitosis). 5, Fijación inespecífica en la proteína A (Fc = acción antifagocitaria).

Toxinas

Cuando *S. aureus* se desarrolla en medios adecuados, puede producir diversas toxinas, que se encuentran en relación con estados de lisogenia o asociadas a la presencia de plásmidos. Las toxinas de mayor importancia son:

Hemolisinas. Son exotoxinas proteicas termolábiles, que presentan una acción lítica sobre los hematíes y una acción tóxica sobre otras células (leucocitos, macrófagos, fibroblastos). En realidad son toxinas citolíticas o citotóxicas. Se conocen 4 toxinas o hemolisinas:

Toxina o hemolisina α. Es una fosfolipasa, que presenta propiedades hemolíticas sobre los glóbulos rojos de conejo a 37 °C y es la responsable de las zonas de hemólisis que se observan alrededor de las colonias (fig. 27-4); presenta, además, propiedades dermonecróticas o letales, cuando se inyecta al conejo por vía intradérmica o intravenosa, respectivamente, y por la acción del formol se transforma en anatoxina. Por lo general, es elaborada por las cepas de origen humano.

Toxina o hemolisina β. Es una esfingomielinasa activa sobre los glóbulos rojos de carnero, cuya zona de hemólisis aumenta de tamaño si después de incubar la placa a 37 °C se coloca a 4 °C (lisis calor-frío); es, además, dermonecrótica y frecuente en los estafilococos de origen animal.

Toxinas o hemolisinas γ y δ. Tienen una importancia menor, pero contribuyen a la patogenia de las lesiones.

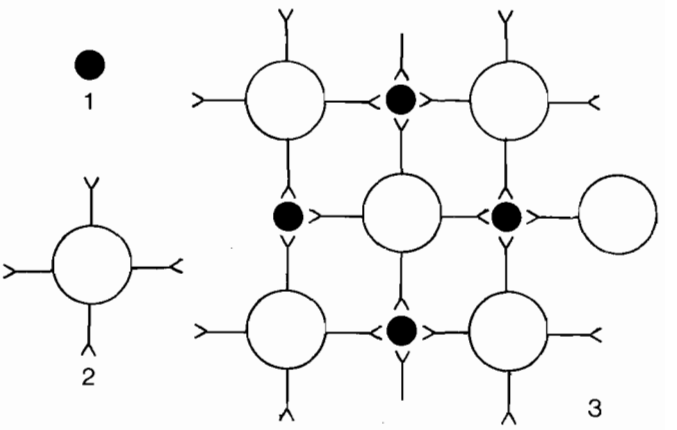


Fig. 27-3. Coaglutinación de estafilococos como reveladora de la reacción antígeno-anticuerpo. 1, Bacterias o antígenos diversos (estreptococos, gonococos). 2, Estafilococos que han fijado por su extremidad Fc anticuerpos específicos (IgG), frente a una bacteria o antígeno determinado, dejando libre la extremidad específica (Fab_2). 3, Coaglutinación en presencia de la bacteria o antígeno correspondiente.

Leucocidinas. Además de las leucocidinas asociadas con las hemolisinas, existen leucocidinas no hemolíticas (factor de Panton y Valentine), compuestas por dos subunidades F y S, que se fijan en los fosfolípidos de la membrana de los polinucleares y macrófagos y producen alteraciones de la permeabilidad que ocasionan la muerte de los fagocitos. Por otra parte, los estafilococos patógenos se caracterizan por su capacidad de supervivencia y de multiplicación en los fagocitos, a diferencia de los no patógenos.

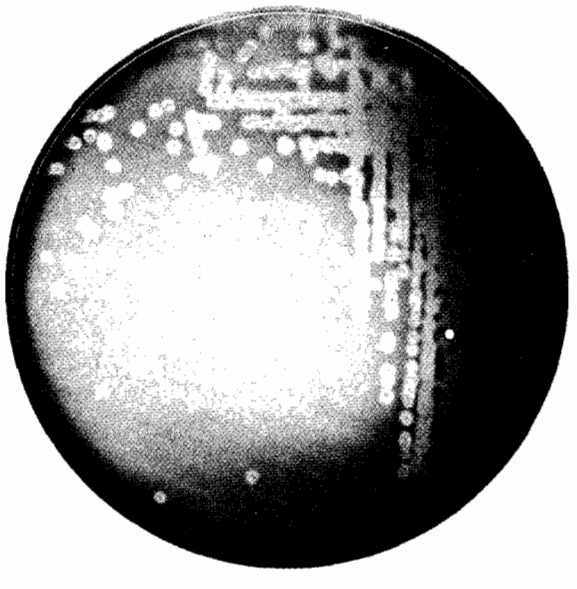


Fig. 27-4. *S. aureus*. Hemólisis en placas de agar-sangre.

Exfoliatina. Algunas cepas de *S. aureus*, en su mayoría del fagogrupo II, son capaces de producir una exotoxina proteica dermotropa, que a partir de una lesión local difun-

de por la sangre y llega a la piel, donde produce enrojecimiento y lesiones bullosas seguidas de una exfoliación más o menos extensa.

Enterotoxinas. Son exotoxinas proteicas que presentan la propiedad de ser resistentes al calor y a los fermentos proteolíticos (jugo gástrico). Se fijan en los receptores nerviosos del tubo digestivo produciendo náuseas, vómitos y diarrea, por acción de la toxina sobre el centro del vómito. Son antigénicas y se transforman en anatoxinas. Se conocen 6 enterotoxinas (A, B, C_1, C_2, D y E), que se identifican por inmunodifusión; la A, B y D son las más importantes y mejor conocidas. Están producidas en su mayoría por *S. aureus* que pertenecen a los fagogrupos III y IV. Las enterotoxinas A y D producen la mayoría de cuadros de intoxicación alimentaria y la B parece asociada con cuadros de enterocolitis.

Fermentos

Los más importantes son:

Coagulasas. La coagulasa libre es un profermento, que, en presencia de protrombina y/o de un cofactor del plasma sanguíneo (*coagulase reacting factor* o CRF), forma un complejo con actividad proteolítica, que transforma el fibrinógeno en fibrina y produce la coagulación del plasma sanguíneo (fig. 27-5); a su vez se liberan fibrinopéptidos que presentan acción sobre la fibra muscular lisa. Se considera relacionada con la virulencia, pues la mayoría de cepas de *S. aureus* la producen (98 %). Interviene en el proceso inflamatorio y en la formación del coágulo intravenoso, factor fundamental en la producción de sepsis. Existe, además, una proteína de la pared celular que presenta una acción semejante (*clumping factor* o coagulasa combinada), que se ha supuesto que sería la causa de la formación de una cubierta protectora de fibrina responsable de la agrupación de los estafilococos y probablemente de su acción inhibidora de la fagocitosis. En la actualidad no se considera relacionada con la virulencia. En el laboratorio, la prueba de la coagulasa en tubo se utiliza para diferenciar *S. aureus* de *S. epidermidis*. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el poder patógeno del estafilococo no depende exclusivamente de la producción de coagulasa, sino de su asociación con otros factores.

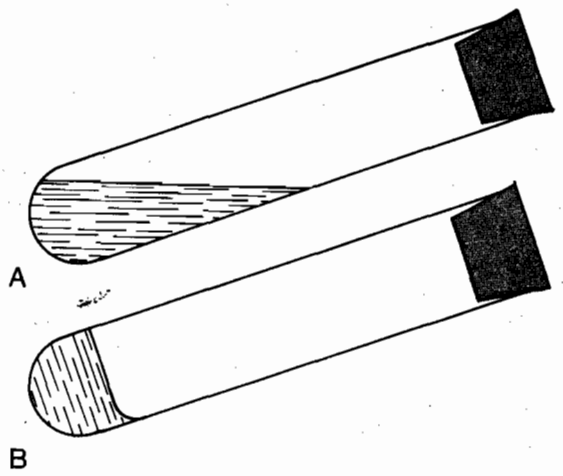


Fig. 27-5. *S. aureus.* Producción de coagulasa libre. A) Reacción negativa. B) Reacción positiva.

Fibrinolisinas (estafiloquinasas). Transforman el plasminógeno en plasmina o fibrinolisina, que descompone las mallas de fibrina. Contribuyen a la capacidad de invasión del estafilococo en los focos inflamatorios y es responsable de la descomposición del coágulo de fibrina y de la formación de microémbolos causantes de las metástasis supuradas. Son elaboradas principalmente por los estafilococos patógenos de origen humano.

Penicilinasas. Son β-lactamasas inducibles, sintetizadas por las cepas resistentes que inactivan la penicilina por apertura del anillo β-lactámico. Su producción es debida a un plásmido que se transmite por transducción.

Otras enzimas. Existen otras enzimas, como *hialuronidasas, desoxirribonucleasas termoestables, fosfatasas* y *lipasas*, que coadyuvan al establecimiento de la infección, invasión y producción de lesiones, y que en cierta manera se encuentran relacionadas con la virulencia.

Hay que tener en cuenta que no todas las cepas de estafilococos presentan los mismos antígenos ni producen las mismas toxinas ni fermentos en calidad y cantidad; por ello, la acción patógena difiere según la cepa que se considere y depende de la acción combinada de estas sustancias en relación con el grado de resistencia orgánica.

Cuadros clínicos

S. aureus puede formar parte de la flora normal de las personas sanas y se halla en la mucosa nasal del 20-40 % (portadores nasales) y en la piel del 10-20 %, especialmente en las manos y periné. Se ha observado que, cuando los portadores sufren intervenciones quirúrgicas, son más frecuentes los casos de sepsis. Pero, además, interviene en la mayoría de infecciones y puede actuar por acción directa en relación con su capacidad invasiva o por mecanismo indirecto, por sus exotoxinas. En el primer caso produce lesiones supuradas y necróticas, cuyo grado de invasión depende de la combinación de toxinas y fermentos que elabora, en relación con el estado del huésped. En el segundo caso es la causa de procesos inflamatorios en el tubo digestivo (enterotoxinas) o en la piel (toxina exfoliativa).

Acción directa

Infecciones localizadas en la piel y mucosas. La más benigna es la foliculitis, proceso inflamatorio piógeno centrado alrededor de un folículo piloso; puede dar lugar a furúnculos, cuando se afecta, además, el tejido celular subcutáneo, y ántrax (fig. 27-6), cuando se produce la fusión de varios furúnculos y se alcanzan tejidos más profundos; se localiza este último generalmente en la parte posterior del cuello y espalda. También puede producir panadizos, infecciones de las heridas y quemaduras, abscesos subcutáneos y submucosos. En los niños produce el impétigo contagioso cuando afecta las capas superficiales de la piel de la cara

Fig. 27-6. Furúnculo de labio superior. (Por cortesía de M. Cruz Hernández, Departamento de Pediatría, Hospital Clínico y Provincial, Barcelona.)

(vesículas que se transforman en costras melicéricas), que puede presentarse en forma epidémica, y el pénfigo del recién nacido. Produce la mayoría de infecciones supuradas superficiales, sobre todo de la piel, que constituyen la puerta de entrada del estafilococo en el organismo.

Infecciones metastásicas de localización visceral. Los estafilococos, ya libres o en el interior de leucocitos polinucleares, pueden difundir por vía linfática o hemática y colonizar tejidos y órganos diversos, donde producen lesiones piógenas y abscesos: meningitis, artritis, pleuritis, osteomielitis en niños y adultos jóvenes, abscesos pararrenales en personas de edad avanzada, endocarditis frecuentes en drogadictos. Son especialmente graves la neumonía o bronconeumonía estafilocócicas, que se presentan muchas veces consecutivas a una gripe.

Procesos generalizados. Van precedidos por la formación del trombo o coágulo intravenoso, a partir del cual el microorganismo se multiplica e invade la sangre (septicemia). Se pueden presentar formas hiperagudas rápidamente mortales (tromboflebitis del seno cavernoso consecutiva a furúnculos del labio superior) y formas agudas menos graves, subagudas y aún crónicas. En las formas subagudas a consecuencia de la producción de fibrinolisina se pueden formar microémbolos y producirse metástasis supuradas en diversos órganos (septicopiemias).

Acción fundamentalmente exotóxica

Enterotoxina. Puede producir dos tipos de cuadros:

Cuadros de intoxicación alimentaria. El consumo de alimentos contaminados por estafilococos que han elaborado enterotoxina, en especial productos de pastelería que contienen crema, puede producir un cuadro de gastroenteritis, que se caracteriza por su corto período de incubación (1-6 horas), ausencia de fiebre, predominio de náuseas y vómitos, seguido de diarrea de 1 ó 2 días de duración, e ineficacia del tratamiento por antibióticos. Se pueden presentar rara vez cuadros graves e incluso mortales en enfermos de edad avanzada. Los manipuladores de alimentos, afectos de lesiones de la piel o portadores de *S. aureus*, pueden contaminar los alimentos y, si las condiciones de conservación no son las adecuadas, se pueden encontrar en el origen de brotes de intoxicación alimentaria que se presentan fundamentalmente en verano.

Cuadros de enterocolitis aguda. En el curso del tratamiento con antibióticos de amplio espectro que ocasionan la destrucción de la flora normal del tubo digestivo, en niños afectos de procesos diversos o en el postoperatorio de intervenciones abdominales, se pueden presentar cuadros severos de enterocolitis aguda, que ocasionalmente pueden ser producidos por estafilococos enterotóxicos. Sin embargo, la mayoría de enterocolitis pseudomembranosas son producidas por una bacteria anaerobia del género *Clostridium* (*C. difficile*).

Toxina exfoliativa. Síndrome de Liell. En los niños se puede presentar el *síndrome de Liell o de la piel escaldada* (fig. 27-7), caracterizado por la aparición de lesiones bullosas de la piel, que en su grado más intenso producen una exfoliación cutánea generalizada (necrólisis epidérmica tóxica).

Síndrome del shock tóxico. Recientemente se ha descrito un nuevo cuadro, *el síndrome del shock tóxico*, caracterizado por fiebre, eritrodermia generalizada con descamación de las manos y los pies, edema, hipotensión con alteraciones hepáticas y fallo renal que presenta una letalidad del 5-10 %. Se ha observado durante la menstruación en mujeres jóvenes que en su mayoría utilizan tampones durante

Fig. 27-7. Necrólisis epidérmica tóxica (síndrome de Liell). (Por cortesía de M. Cruz Hernández, Departamento de Pediatría, Hospital Clínico y Provincial, Barcelona.)

largo tiempo y también en niños mayores. De las mucosas se han aislado cepas de *S. aureus* pertenecientes al fagogrupo I, productores de una nueva toxina (exotoxina pirogénica C, enterotoxina F). Son glicoproteínas de bajo peso molecular con propiedades pirógenas, enterotóxicas y estimulantes del shock, que no se sabe si se trata de una misma sustancia.

Factores predisponentes. Infecciones hospitalarias

La frecuencia de presentación y la gravedad de las infecciones estafilocócicas no dependen exclusivamente de la acción patógena del microorganismo, sino, además, de factores del huésped, que disminuyen sus mecanismos naturales de defensa. Existen *factores locales*, como la presencia de heridas, quemaduras, aceites y grasas que irritan la piel, y *factores generales*, como la edad (recién nacidos y personas de edad avanzada), infecciones, afecciones debilitantes (diabetes, cirrosis, cáncer, drogadicción) deficiencias inmunológicas y los tratamientos por rayos X, antibióticos, corticoides e inmunodepresores.

Las infecciones estafilocócicas se presentan con especial frecuencia en los hospitales, pues en ellos concurren una serie de factores:

1. *Numerosas fuentes de infección*, constituidas por los enfermos con lesiones abiertas y sobre todo por los portadores sanos que forman parte del personal asistente. Se considera que del 50-70 % del personal asistente son portadores de *S. aureus*, en su mayoría resistentes a uno o varios antibióticos, como consecuencia de su elevado índice de empleo en el hospital. A partir de los infectados, los estafilococos contaminan el medio hospitalario, donde por su resistencia a los agentes externos pueden sobrevivir durante largo tiempo, formándose un amplio reservorio ambiental (ropas, objetos, aparatos) a partir del cual se pueden infectar otros pacientes.
2. *Facilidades en la transmisión*, debido a la constante asistencia al enfermo, que se produce por las manos, ropas y objetos contaminados, así como por vía aérea (gotitas, polvo), sobre todo cuando se descuida mantener las normas de asepsia.
3. *Una población más susceptible a las infecciones*, constituida por los enfermos hospitalizados, como consecuencia de la enfermedad que motivó su ingreso, de las técnicas instrumentales y de los tratamientos que se aplican (inyecciones, suturas, catéteres, perfusiones), que se incluyen dentro de los factores predisponentes.

Esto hace que en los hospitales se produzcan numerosas infecciones cruzadas por cepas de estafilococos, en su mayoría multirresistentes a los antibióticos, y factores ambientales que muchas veces difunden en forma epidémica en determinadas áreas críticas, como en las salas de pediatría (prematuros, recién nacidos y lactantes), cirugía y partos, y en las unidades de cuidados intensivos, creando verdaderos problemas.

En la década de los 50 se consideró el estafilococo como el enemigo público n.º 1 en los hospitales. En la actualidad, aunque su número ha disminuido, aún produce un grupo importante de infecciones hospitalarias, que han sido superadas sólo por los bacilos gramnegativos.

Para conocer su difusión se emplea la técnica de la fagotipia, que permite definir un brote epidémico, seguir la cadena de infección en sentido retrógrado y determinar su origen. De esta manera se puede llegar a conocer que un grupo de infecciones en una sala de cirugía o de pediatría son debidas a enfermos con lesiones abiertas o a miembros del personal asistente, portadores nasales del mismo fagotipo.

OTRAS ESPECIES DEL GENERO STAPHYLOCOCCUS

Dentro del género *Staphylococcus*, los estafilococos coagulasa-negativos constituyen un grupo heterogéneo de bacterias comensales de la piel, que en general se consideran como contaminantes de los productos patológicos, pero cuya importancia como patógenos oportunistas cada día es mayor, como consecuencia de los avances tecnológicos y terapéuticos que han aumentado la susceptibilidad.

Los estudios metabólicos y de hibridación han permitido diferenciar diversas especies cuya importancia en la producción de infecciones es variable y en general poco conocida. *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* son las especies más frecuentes e importantes que se encuentran en el 60-80 % de infecciones producidas por estafilococos coagulasa-negativos. *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. saccharolyticus*, *S. simulans*, *S. warneri* y *S. cohnii* se aíslan del 5-20 % de los casos y las demás especies sólo ocasionalmente, debiendo tener siempre presente que *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. sciuri*, *S. lentus* y *S. xylosus* se encuentran por regla general en los animales.

S. epidermidis

Es un comensal caracterizado en que no produce coagulasa, no fermenta el manitol, no produce toxina α ni nucleasas termoestables, que por lo general elabora un pigmento blanco aporcelanado y, además, es sensible a la novobiocina (tabla 27-2). Se encuentra constantemente en la piel, en especial en los lugares húmedos y zonas de transición del epitelio cutaneomucoso. Por lo general no es patógeno, pero puede comportarse como un germen oportunista y producir ocasionalmente infecciones urinarias, infecciones de las heridas postoperatorias, endocarditis, meningitis e incluso sepsis. Los cuadros más frecuentes son las infecciones urinarias en el varón, que se presentan en enfermos hospitalizados después de intervenciones quirúrgicas del tracto urinario o zonas vecinas, y los más graves, las sepsis en enfermos sometidos a técnicas instrumentales, que presentan sus mecanismos de defensa afectados, de manera que la colocación de catéteres venosos o urinarios o la implantación de prótesis artificiales (válvulas, anastomosis) abren nuevas puertas de entrada, que facilitan la difusión del microorganismo, y el estado deficitario de sus defensas permite su multiplicación y acción patógena.

Entre sus caracteres estructurales y biológicos destacan la presencia en su pared celular de ácidos teicoicos constituidos por polímeros de fosfato de glicerol, la sensibilidad a la novobiocina y una resistencia variable a los antibióticos, aunque en general elevada. Hay que tener en cuenta que el 10 % de cepas pueden ser hemolíticas.

S. saprophyticus

Es un estafilococo saprofito del medio ambiente, que también puede encontrarse en la piel y mucosas, y ocasionalmente se ha aislado de infecciones urinarias extrahospitalarias, especialmente en la mujer (infecciones oportunistas). Presenta caracteres semejantes a *S. epidermidis*, se diferencia por la composición de los ácidos teicoicos que se encuentran en la pared celular (polímeros de fosfato de ribitol), la resistencia a la novobiocina y su sensibilidad a la mayoría de antibióticos.

Género Micrococcus

Las diferentes especies del género Micrococcus (*M. luteus*, *M.* roseus y *M. varians*) se encuentran ampliamente difundidas en el medio ambiente (agua, suelo) y pueden encontrarse también en la piel y nasofaringe. Se considera un género no patógeno, que sólo excepcionalmente se comporta como oportunista. Se caracteriza por ser aerobio estricto, producir colonias mayores y a veces pigmentadas (amarillas, anaranjadas), no producir coagulasa y no atacar los azúcares por fermentación (anaerobiosis) (tabla 27-1).

Hay que señalar que todos estos microorganismos, por encontrarse en la piel, pueden contaminar accidentalmente las muestras para examen bacteriológico (sangre, orina, LCR, pus) y los cultivos, cuando la desinfección de la piel del enfermo o de las manos del técnico no ha sido adecuada, y dar lugar a falsos cultivos positivos, en especial hemocultivos. Por ello se consideran en general gérmenes de contaminación sin significado clínico. Sólo cuando se aíslan repetidamente a partir de un mismo producto obtenido en condiciones irreprochables o se observa su predominio en la muestra, se puede valorar su papel causal.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Se efectúa por el aislamiento e identificación de los estafilococos en los productos patológicos y la demostración de su carácter patógeno.

Toma de muestras

Es fundamental que se obtenga una muestra selectiva (pus, sangre, esputos, orina, secreción nasal) con completa asepsia, para evitar la contaminación por los gérmenes comensales. En las lesiones superficiales o abiertas debe recogerse el producto patológico con un hisopo, en las colecciones cerradas debe hacerse mediante una punción aspiradora con material estéril y en los procesos generalizados ha de practicarse un hemocultivo. Los esputos, orina, heces y restos de alimento se recogerán en recipientes adecuados.

Debido a su resistencia a los agentes ambientales, no deben tomarse precauciones especiales para su transporte y conservación; sólo si se retarda el cultivo, debe conservarse la muestra en la nevera.

Examen directo

Con el producto obtenido se practica un frotis que se tiñe por el método de Gram. Se observarán leucocitos o células

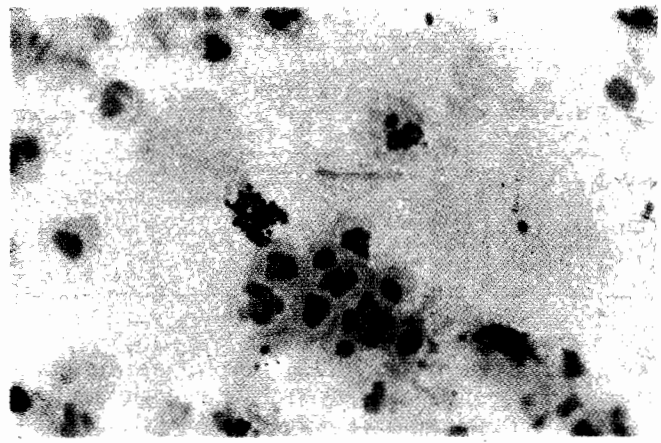


Fig. 27-8. Examen directo de pus estafilocócico. Método de Gram: leucocitos y cocos grampositivos.

de pus y cocos grampositivos, ya aislados, dos a dos, en pequeñas cadenas o en agrupaciones irregulares (fig. 27-8); sólo en este último caso puede sospecharse con fundamento la presencia de estafilococos. El examen directo puede orientar el diagnóstico, pero en todos los casos debe practicarse un cultivo para proceder al aislamiento e identificación del germen causal.

Aislamiento por cultivo

Se pueden considerar dos casos:

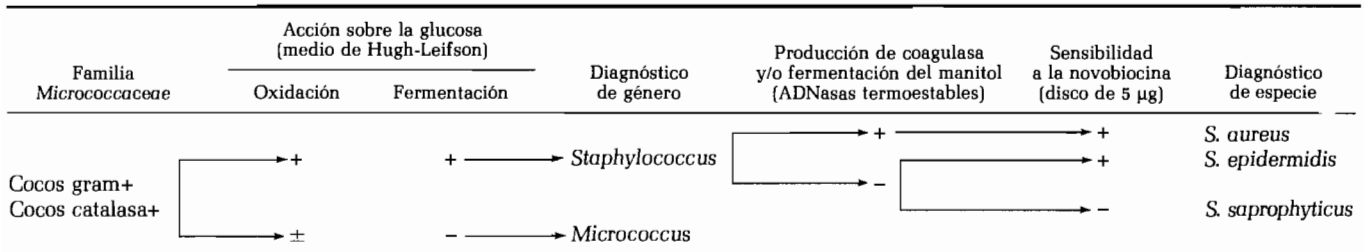
Productos no contaminados. Si proceden de lesiones localizadas (abscesos, artritis, osteomielitis, meningitis), se practica una siembra en agar-sangre, que permitirá observar las características de las colonias y la presencia de pigmentos y de hemólisis (fig. 27-3). No debe emplearse sangre humana por la presencia de anticuerpos y de inhibidores no específicos. En el caso de procesos generalizados se obtienen 5-10 ml de sangre asépticamente durante el período febril, que se siembran en un frasco de hemocultivo.

Productos contaminados (esputos, orina, heridas, abscesos y lesiones abiertas). Es conveniente cultivar el producto en un medio selectivo que permita el desarrollo de los estafilococos e inhiba los gérmenes acompañantes. Para ello se utiliza la propiedad que tienen los estafilococos de crecer en concentraciones hipertónicas de ClNa, sembrando el producto en el medio de Chapman o medio manitol salado, que sólo permite el desarrollo de los estafilococos y, además, por la fermentación del manitol puede indicar su carácter patógeno. También se emplea el medio de Baird Parker (con huevo y telurito potásico), donde los estafilococos forman colonias de color negro rodeadas de un halo claro debido a la acción de una lipoproteasa.

Identificación

El diagnóstico de género se efectúa por los caracteres de las colonias, ya macroscópicos (colonias de 1-3 mm de diámetro, planoconvexas, lisas, opacas y de consistencia butirosa) o microscópicos (cocos grampositivos en racimo), la

Tabla 27-4. «Micrococcaceae». Marcha de identificación presuntiva



producción de catalasa (no se debe practicar a partir de colonias en agar-sangre) y la fermentación de la glucosa (medio de Hugh-Leifson) (tabla 27-4). El género *Micrococcus* se diferencia porque, en general, los cocos son de mayor tamaño, las colonias están pigmentadas (amarillo, naranja) y sobre todo son incapaces de utilizar la glucosa en anaerobiosis (fermentación).

La identificación de la especie *S. aureus* (cepas patógenas) se basa fundamentalmente en la demostración de la producción de coagulasa libre (tabla 27-2) y la fermentación del manitol, pruebas que generalmente se presentan asociadas, pues sólo el 2 % de estafilococos manitol-positivos son coagulasa-negativos. Se consideran pruebas suplementarias la producción de hemolisina α y de fibrinolisina, que, además, indican estafilococos de origen humano, ADNasas termoestables y fosfatasas. Si en las colonias se observa claramente un pigmento amarillo dorado, se puede ya establecer el diagnóstico sin pruebas adicionales, pues todos los *S. aureus* son patógenos. Si el pigmento es blanco, no se puede considerar como *S. epidermidis* en todos los casos, pues algunos producen coagulasa y se clasifican como *S. aureus*.

El estudio de la sensibilidad a la novobiocina (disco de 5 µg) se utiliza como método de rutina para diferenciar *S. epidermidis* (sensible) de *S. saprophyticus* (resistente). La identificación de las especies de estafilococos coagulasa-negativos que se aíslan en el hombre se expone en la tabla 27-5.

Diagnóstico de tipo

La determinación del serotipo se efectúa por aglutinación sobre porta con la ayuda de sueros de conejo tipoespecíficos. La determinación del fagotipo se efectúa practicando en una placa de cultivo previamente cuadriculada una siembra masiva en superficie del estafilococo problema y depositando en cada cuadrícula una gota de cada uno de los 22 fagos seleccionados (fig. 27-9). Después de incubación a 37 °C se determina el fagotipo, que viene definido por el fago o los fagos que lisan la cepa problema; así el fagotipo 52/52A/80 es la cepa que se lisa por estos tres fagos.

Determinación del carácter enterotóxico

En los casos de intoxicación alimentaria se debe aislar el estafilococo de los restos de alimento causal (ya que de ordinario no se encuentra en las heces), y en los casos de enterocolitis aguda se practica un coprocultivo en medio de Chapman y se aíslan numerosos estafilococos que presentan carácter patógeno *(S. aureus)*.

La producción de enterotoxina puede demostrarse por inoculación al gato o mono de la toxina obtenida en el medio de Dolman, que produce vómitos y diarreas, y sobre todo por pruebas de inmunodifusión frente a los sueros an-

Tabla 27-5. Identificación de las especies de Staphylococcus coagulasa-negativos que se aíslan del hombre

	Pigmento	Crecimiento en anaerobiosis	Reducción de los nitratos	Fosfatasa alcalina	Utilización de la arginina	Producción de ureasa	Hemólisis	Resistencia a la novobiocina	Formación de ácido en aerobiosis a partir de: Maltosa	Trehalosa	Manitol	Xilosa	Celobiosa	Sacarosa	Xilitol	Rafinosa	Manosa
S. epidermidis	−	+	+	+	+	+	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	(+)
S. hominis	d	−	d	−	d	+	−	−	+	d	−	−	−	(+)	−	−	−
S. haemolyticus	d	(+)	d	−	+	−	(+)	−	+	+	d	−	−	+	−	−	−
S. warneri	d	+	−	−	d	+	(d)	−	(+)	+	d	−	−	+	−	−	−
S. capitis	−	(+)	d	−	d	−	−	−	−	−	+	−	−	(+)	−	−	+
S. auricularis	−	(±)	(d)	−	d	−	−	−	(+)	(+)	−	−	−	d	−	−	−
S. saprophyticus	d	(+)	−	−	−	+	−	+	+	+	d	−	−	+	d	−	−
S. cohnii	−	d	−	−	−	−	d	+	(d)	+	d	−	−	−	d	−	d
S. xilosus	d	d	d	d	−	+	−	+	+	+	d	+	−	+	(d)	−	+
S. simulans	−	+	+	(d)	+	+	(d)	−	−	d	+	−	−	+	−	−	d
S. soccharolyticus	−	+	+	d	+	ND	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	(+)

Tomado en parte de Kloos, W. E., y Jorgensen, J. H. (1985).

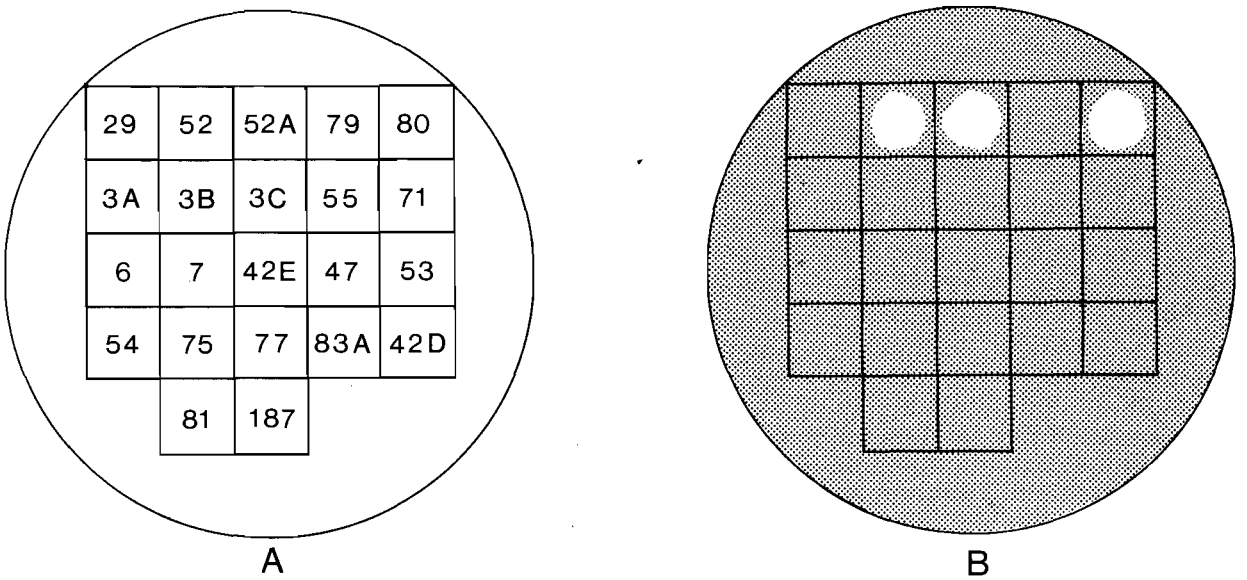


Fig. 27-9. Fagotipia. A) Orden de colocación de los 22 fagos seleccionados. B) Fagotipo o lisotipo 52/52A/80.

titóxicos tipoespecíficos, que permiten reconocer el tipo de enterotoxina producida por el estafilococo causal.

TRATAMIENTO

Las lesiones superficiales y benignas por lo general no requieren tratamiento. Cuando las lesiones son más importantes o existen factores predisponentes, la terapéutica se basa en la selección del antibiótico más adecuado y en el tratamiento quirúrgico de la infección y del proceso de base que presenta el enfermo.

Selección del antibiótico

La evolución de los estafilococos hacia la resistencia ha sido muy rápida sobre todo en el medio hospitalario, donde la proporción de cepas resistentes a la penicilina ha pasado del 15 % en 1946 al 80 % en 1960, y es raro en la actualidad encontrar cepas sensibles. El empleo de otros antibióticos, como la estreptomicina, eritromicina, tetraciclinas y cloranfenicol, ha seguido una evolución semejante. El hallazgo de las penicilinas semisintéticas del grupo meticilina-oxacilina resistentes a la penicilinasa y de las cefalosporinas parecía que tenía que resolver el problema, pero a partir de 1960 empezaron a surgir cepas resistentes que en la actualidad representan del 5-30 %.

La resistencia a la meticilina no depende de la producción de penicilinasa; es una resistencia intrínseca de tipo cromosómico, probablemente debida a modificaciones de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), pero cuya manifestación viene regulada por factores ambientales. En condiciones normales de cultivo, sólo una mínima fracción de bacterias de la cepa es capaz de expresar la resistencia, pero si se cultiva en agar hipersalado (5 % de ClNa) o a temperatura de 25 °C, o ambos, la casi totalidad de las bacterias la manifiestan (fig. 27-10). Es la resistencia heterogénea que corresponde a una verdadera resistencia clínica. Muchas cepas son resistentes a la mayoría de antibióticos y constituyen un importante problema clínico, epidemiológico y terapéutico en muchos hospitales.

En consecuencia, se aconseja la práctica de un antibiograma para determinar el antibiótico o los antibióticos más eficaces. En líneas generales, las cepas penicilinorresistentes son sensibles al grupo meticilina-oxacilina y a las cefalosporinas. En caso de resistencia a estos antibióticos (resistencia heterogénea), pueden emplearse aminósidos (kanamicina, gentamicina, tobramicina, amikacina), macrólidos (eritromicina) o lincosamidas (lincomicina, clindamicina). La vancomicina, debido a su toxicidad, se utiliza como último recurso en los procesos graves. Teniendo en cuenta que el predominio de cepas resistentes y multirresistentes depende del empleo indiscriminado de antibióticos, y que, en ausencia de su administración, las cepas resistentes de estafilococos son rápidamente sustituidas por cepas sensibles, en las infecciones estafilocócicas se aconseja limitar el empleo de antibióticos. En las formas de gravedad mediana se debe administrar un solo antibiótico y en las formas más graves y en pacientes debilitados, con déficit inmunológicos o tratados con inmunodepresores, se pueden administrar dos antibióticos bactericidas que presenten una acción aditiva

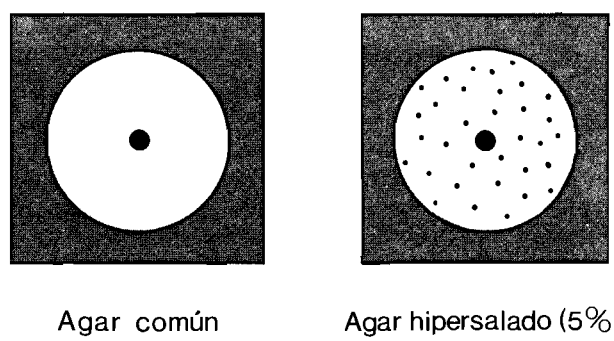


Fig. 27-10. Resistencia heterogénea de los estafilococos a la meticilina.

o sinérgica. Por lo general se acostumbra combinar las β-lactaminas (cloxacilina o cefalosporinas) con aminósidos (gentamicina o kanamicina), eritromicina o vancomicina. En las endocarditis puede emplearse la asociación de rifampicina, que penetra en las vegetaciones de las válvulas y en los macrófagos, con otro antibiótico para retardar la aparición de resistencias.

Hay que tener en cuenta que las β-lactaminas no actúan sobre los gérmenes en fase de reposo metabólico, *persisters*, o sin pared celular (protoplastos, formas «L»), que pueden ser la causa de recaídas.

Tratamiento quirúrgico

El tratamiento antibiótico hay que asociarlo con el drenaje quirúrgico de las colecciones supuradas, que, además, facilita la vascularización de la zona y la llegada del antibiótico al foco de infección.

Tratamiento de la enfermedad de base

Es fundamental y, además, hay que evitar en lo posible la actuación de factores predisponentes, como los tratamientos con corticoides, inmunodepresores, etc. En el caso de procesos estafilocócicos de repetición es interesante investigar la existencia de una posible diabetes.

INMUNIDAD Y VACUNAS

El hombre presenta una resistencia natural elevada frente al estafilococo, que explica la escasa frecuencia de infecciones, a pesar de su ubicuidad.

Parece que la inmunidad es tipoespecífica (gran variedad de antígenos superficiales) y de poca intensidad y duración. En las infecciones se puede demostrar la aparición de anticuerpos frente a diversos fermentos y toxinas, pero en general se producen respuestas pobres y tardías, ya que los estafilococos se encuentran poco en contacto con la circulación y están protegidos de los anticuerpos en las colecciones supuradas. En consecuencia, la inmunidad es fundamentalmente celular y la fagocitosis, su factor más importante; sin embargo, cuando la fagocitosis es incompleta y sólo se altera la pared celular, pueden producirse formas L, que son la causa de recaídas.

Por ello, las vacunas y sueros son poco eficaces y por lo general no se emplean. Sólo en casos de procesos estafilocócicos tórpidos o recidivantes (furúnculos de repetición) pueden emplearse vacunas totales inactivadas, preparadas con el mismo microorganismo causante del proceso (autovacunas) y asociadas o no con anatoxina estafilocócica, cuya eficacia es aleatoria. Los ensayos de vacunas preparadas con antígenos purificados (ácidos teicoicos) no han dado resultados satisfactorios.

BIBLIOGRAFIA

Casman, E. P.: Staphylococcal enterotoxin. Ann. N. Y. Acad. Sci., 128, 124-121, 1971.

Jeljaszewicz, J. (dir.): Staphylococci and Staphylococcal Infections. Karger, Basel, 1973.

Jessen, O.; Rosendal, K.; Bulow, P.; Faber, V., y Eriksen, K. L.: Evolución de los estafilococos y de las infecciones estafilocócicas (estudio de 10 años). JAMA, 5, 3-15, 1971.

Kloos, W. E., y Scheifer, K. H.: Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. J. Clin. Microbiol., 1, 82-88, 1975.

Melish, M. E., y Glasgow, L. A.: The staphylococcal scalded skin syndrome. N. Engl. J. Med., 282, 114-119, 1970.

Shrestha, T. L., y Darrell, J. H.: Urinary Infection with coagulasa negative staphylococci in a teaching hospital. J. Clin. Pathol., 32, 239-302, 1979.

Todd, J.; Fishaut, M.; Kapral, F., y Welch, T.: Toxic-Shock Syndrome associated with phage group I staphylococci. Lancet, 2, 1116-1118, 1978.

Wentworth, B. B.: Bacteriophage Typing of the staphylococci. Bacteriol. Rev., 27, 253-272, 1963.

Wiseman, G. M.: Hemolysins of S. *aureus*. Bacteriol. Rev., 39, 317, 1975.

Capítulo 28

Streptococcus

Agustín Pumarola

COMUNIDAD DE MADRID

CONCEPTO Y CLASIFICACION

El género *Streptococcus* en el Manual de Sistemática Bacteriológica de Bergey (1986) se le considera con personalidad propia y no englobado en familia alguna. Está constituido por cocos grampositivos, de forma esférica u oval, de 1-1,5 μm de diámetro, anaerobios facultativos, que se disponen a pares o en cadena por la existencia de puentes de pared celular. No producen catalasa ni oxidasa y fermentan la glucosa con formación de ácidos (fig. 28-1). Son más exigentes que los estafilococos en sus necesidades nutritivas y de cultivo, y presentan una resistencia variable a los agentes externos, que depende de la especie.

Forman un grupo muy amplio y heterogéneo, algunos de cuyos componentes son saprofitos, otros forman parte de la flora normal y se comportan como oportunistas, y algunos son patógenos y pueden producir infecciones diversas en el hombre y los animales.

La clasificación de los estreptococos se efectúa tomando como base tres grupos de caracteres: el tipo de hemólisis, la estructura antigénica y las propiedades fisiológicas.

Tipo de hemólisis

Según su comportamiento en placas de agar-sangre de carnero, los estreptococos se dividen en:

1. β-Hemolíticos o hemolíticos, cuando producen una zona de hemólisis total alrededor de la colonia. A diferencia de los estafilococos se observa por lo general una colonia pequeña rodeada de una amplia zona de hemólisis.
2. α-Hemolíticos o *viridans*, cuando producen una zona pequeña de hemólisis parcial con decoloración verdosa alrededor de la colonia.
3. γ-Hemolíticos o no hemolíticos, cuando no modifican el medio.

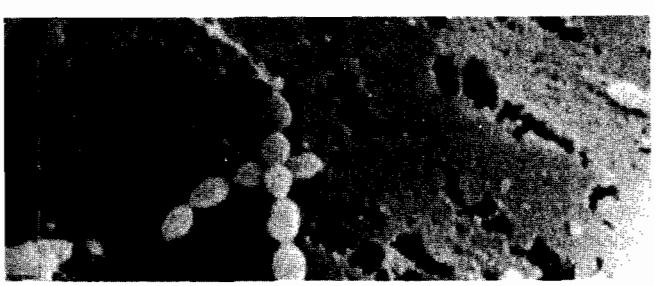
Estructura antigénica

Es muy compleja. Los antígenos más importantes se encuentran en la pared celular y en la cápsula (figs. 3-5 y 3-6, págs. 27 y 28).

Pared celular

En su parte más profunda se encuentra el peptidoglicano que es antigénico y puede presentar propiedades tóxicas, pues la inoculación de extractos del peptidoglicano del grupo A por vía intravenosa al conejo le produce carditis. Se encuentra asociado con ácidos teicoicos unidos a un glicolípido o ácidos lipoteicoicos, constituidos por largas cadenas que afloran a la superficie y pueden actuar como antígenos de superficie e intervenir en la adherencia del estreptococo a las células epiteliales de la mucosa. Por encima del pepti-

A



B

Fig. 28-1. Cultivo de estreptococos. Agrupación en cadena. A) Microscopio ordinario (× 1.000). B) Microscopio electrónico (× 10.000).

doglicano, se encuentran antígenos específicos de grupo y de tipo.

Antígenos de grupo. El más importante es la sustancia o carbohidrato C, que ha permitido dividir los estreptococos en grupos que se designan por letras (A-V). En su gran mayoría están constituidos por polisacáridos (grupos A-K, excepto el D), aunque también pueden ser ácidos lipoteicoicos, polímeros de fosfato de glicerol (grupos D y N) o de ribitol (*S. pneumoniae*). Además, existen estreptococos que, por no presentar este antígeno, no pueden clasificarse en los grupos anteriores y constituyen los estreptococos no agrupables. La mayoría de estreptococos agrupables son por lo general β-hemolíticos, aunque también se encuentran un pequeño número de estreptococos α y γ-hemolíticos, especialmente en el grupo D. Los estreptococos α y γ-hemolíticos se encuentran sobre todo en los estreptococos no agrupables. La caracterización del carbohidrato C y la clasificación de los estreptococos puede realizarse por pruebas serológicas de precipitación, coaglutinación, látex o inmunofluorescencia frente a sueros específicos.

El grupo más importante es el A, que interviene en la mayoría de procesos patógenos, y es interesante señalar que en la pared celular y membrana citoplásmica se encuentran antígenos que presentan reactividad cruzada con antígenos tisulares humanos.

Antígenos de tipo. Se encuentran en la capa más externa y pueden ser proteínas o polisacáridos.

En el grupo A existen las proteínas M, T y R. La más importante es la proteína M, resistente al calor y a los ácidos, que ha permitido dividir este grupo en 70 tipos. Se encuentra asociada con el ácido lipoteicoico en estructuras semejantes a fimbrias, relacionadas con la adherencia, y constituye un factor de virulencia por sus propiedades antifagocitarias. Los diversos tipos no presentan inmunidad cruzada, de manera que la infección por uno de ellos produce una inmunidad tipoespecífica, que no protege frente a los demás.

Las proteínas T y R no están relacionadas con la virulencia, pero también se han empleado para la clasificación en tipos, en especial la proteína T, que es sensible al calor y a los ácidos.

En el grupo C, también se encuentran proteínas tipoespecíficas, que no están relacionadas con las del grupo A. En los grupos B, D, F y G y en *S. pneumoniae*, los antígenos de tipo son polisacáridos y están relacionados con estructuras de tipo capsular.

Cápsula

Las estreptococos de los grupos A y C presentan una cápsula de ácido hialurónico, que no es antigénica, pero que está dotada de propiedades antifagocitarias. En el grupo B se encuentra un carbohidrato de tipo capsular (sustancia S), que ha permitido la clasificación en 4 tipos (Ia, Ib, II, III). Los tipos Ia y III se encuentran asociados con infecciones neonatales; el tipo Ia se localiza en el tracto respiratorio y el tipo III, en el SNC. Este tipo puede contener, además, una cápsula aparente de ácido siálico, que se ha relacionado con la invasividad del SN. *S. pneumoniae* presenta una cápsula de naturaleza polisacárida que permite dividirlo en 83 tipos.

Propiedades fisiológicas

Los estreptococos se diferencian de los estafilococos en que no producen catalasa y de los neumococos en que no se lisan por la bilis ni se inhiben por la optoquina.

La identificación de las diferentes especies de estreptococos se puede efectuar exclusivamente sobre la base del estudio de gran número de propiedades fisiológicas (más de 30), sin que sea esencial la determinación del grupo serológico. Es una clasificación compleja que constituye el cometido de laboratorios especializados. Sin embargo, existen algunas propiedades fisiológicas que son casi exclusivas de un grupo antigénico determinado y que en los laboratorios de rutina se utilizan para su identificación. Los estreptococos del grupo A se caracterizan en que, en más del 95 % de los casos, se inhiben por un disco de bacitracina de 0,04 U; los del grupo B se caracterizan en que producen la hidrólisis del hipurato sódico y la reacción CAMP, y los del grupo D se caracterizan en que en el medio agar-bilis-esculina son capaces de desarrollarse en presencia de bilis y producir la hidrólisis de la esculina y el ennegrecimiento del medio; en este grupo se pueden diferenciar los enterococos, con su especie tipo *S. faecalis*, que son capaces de crecer en medios hipersalados (6,5 % de ClNa), de los no enterococos con la especie tipo *S. bovis*, que no se desarrollan en estos medios. Los demás estreptococos β-hemolíticos de los grupos C, G y F y los estreptococos *viridans* no agrupables presentan en general estas reacciones negativas. Por otra parte, los estreptococos del grupo A y los enterococos son capaces de hidrolizar la pirrolidonil-β-naftilamida (PYR), prueba que se considera más específica que la sensibilidad a la bacitracina para la caracterización del grupo A. También se ha demostrado que los estreptococos del grupo B son resistentes a un disco de 2 μg de metotrexato en un medio libre de antagonistas.

Clasificación

Por lo general, la clasificación de los estreptococos se efectúa en una primera fase determinando el grupo antigénico mediante reacciones serológicas específicas (reacción de precipitación, coaglutinación, aglutinación pasiva, inmunofluorescencia) o pruebas fisiológicas presuntivas.

Si se relaciona el tipo de hemólisis y también algunas pruebas fisiológicas, puede obtenerse la clasificación presuntiva de los estreptococos en grupos en el 94-99 % de todos los casos (tabla 28-1).

En una segunda fase puede determinarse la especie por pruebas fisiológicas, especialmente para el grupo D y los estreptococos *viridans* (tablas 28-2 y 28-3).

Los estreptococos de interés médico se encuentran en 3 grandes grupos:

1. Los estreptococos β-hemolíticos, especialmente de los grupos A, B, C, G y F, de los cuales el grupo A es el más importante.
2. Los enterococos, que forman parte del grupo D. En base a los estudios de hibridación se ha propuesto la creación del género *Enterococcus* (Schleifer y Kilpper-Bälz, 1984).
3. Los estreptococos *viridans*, excepto aquellos comprendidos dentro del grupo D.

Tabla 28-1. Identificación presuntiva de los estreptococos

		Reacciones serológicas				Reacciones fisiológicas						
						Sensibilidad					Crecimiento	
	Tipo de hemólisis	Precipitación CIEF	Coaglutinación	Agl. pasiva. Látex	Inmunofluorescencia	Bacit	PYR	ST o MT	Optoquina y bilis	Hipurato-Na, CAMP	BE	ClNa al 6,5 %
S. β-hemolíticos												
Grupo A	β	+	+	+	+	+*	+	−	−	−	−	−
Grupo B	β*	+	+	+	+	−*	−	−	−	+	−	±
Grupo D (enterococo)	α, β, γ	+	+	+	NP	−	+	−	−	−*	+	+
Grupo D (no enterococo)	α, γ	+	±	±	NP	−	−	+	−	−	+	−
Grupos C, G, F	β	+	+	+	NP	−*	−	+	−	−	−*	−
Grupo *viridans*	α, γ	−	−	−	−	±	−	+*	−	−*	−*	−
S. pneumoniae	α	−	−	−	−	±	−	+*	+	−	−	−
Aerococos	α, γ	−	−	−	−				−		−	+

*Algunas excepciones.
Bacit: bacitracina; ST: sulfametoxazol-trimetoprim; CIEF: contrainmunoelectroforesis; PYR: pirrolidonil-β-naftilamida, MT: metotrexato; NP: no posible; BE: medio bilis-esculina.

Tabla 28-2. Identificación de los estreptococos del grupo D

Especies	Hemólisis	Crecimiento en 6,5 de ClNa	Fermentación (ácido)		Crecimiento a pH 9,6
			Sorbitol	Arabinosa	
S. faecalis	α, β, γ	+	+	−	+
S. faecium	α, β	+	−	+	+
S. avium	α, γ	+	+	+	+
S. bovis	γ	−	−	−	−

Tabla 28-3 Esquema de identificación de los estreptococos viridans

1. *Acidificación de la lactosa y del manitol*	
Hidrólisis del hipurato positiva, no producción de glucanos	*S. uberis*
Hidrólisis del hipurato negativa, producción de glucanos	*S. mutans*
2. *Acidificación de la lactosa, pero no del manitol*	
Acidificación de la inulina	
Producción de glucanos, hidrólisis de arginina, α-hemolítico	*S. sanguis I*
Producción de glucanos, arginina negativa, no hemolítico	*S. salivarius*
No acidificación de la inulina	
Hidrólisis de la esculina positiva	*S. intermedius*
Hidrólisis de la esculina negativa	
Acidificación de la rafinosa	*S. sanguis II*
No acidificación de la rafinosa	*S. mitis*
3. *No acidificación de la lactosa ni del manitol*	
Hidrólisis del hipurato positiva	*S. acidominimus*
Hidrólisis del hipurato negativa	
Hidrólisis de la esculina positiva	*S. constellatus*
Hidrólisis de la esculina negativa	*S. morbillorium*

De Facklam, 1977.

ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO A (S. PYOGENES)

Son estreptococos β-hemolíticos, relativamente sensibles a los agentes externos, que atendiendo a la proteína M se dividen en 70 tipos que no presentan inmunidad cruzada. Se encuentran en la mucosa nasal o faríngea del 5-10 % de personas sanas (portadoras) e intervienen en la mayoría de procesos patógenos (> 90 %). Si se aíslan del medio ambiente indican que ha tenido lugar una contaminación reciente (tabla 28-4).

Acción patógena

Es debida a la presencia de antígenos de superficie, fermentos y toxinas.

Tabla 28-4. Algunas propiedades de los principales grupos de Streptococcus

	Hemólisis	Especies	Tipos	Habitat más frecuente	Procesos patológicos	Sensibilidad a la penicilina y agentes externos
Grupo A	β	*S. pyogenes*	70	Rinofaringe del hombre	90 % de procesos supurados y no supurados	Muy sensibles
Grupo B	β	*S. agalactiae*	5	Intestino y aparato genital del hombre y animales	Mastitis crónica Infecciones neonatales	Sensibles
Grupos C, G, F	β	*S. equisimilis* *S. anginosus* *S. sp.*	8	Rinofaringe del hombre y animales	Infecciones piógenas diversas	Sensibles
Grupo D	α, β, γ	*S. faecalis* *S. faecium* *S. avium* *S. bovis*	11 19	Intestino del hombre y animales	Infecciones urinarias Meningitis Otitis Endocarditis	Resistentes
Grupo *viridans* (no grupo D)	α, γ	*S. salivarius* *S. mitis* *S. mutans*		Orofaringe del hombre y animales	Endocarditis subaguda Caries dental	Menos sensibles

Antígenos de superficie

Los ácidos lipoteicoicos, al aflorar a la superficie, forman complejos con la proteína M, que se observan al microscopio electrónico como fibrillas en la superficie de la bacteria responsables de la adherencia con las células.

La proteína M y la cápsula están relacionadas con la virulencia por sus propiedades antifagocitarias, que facilitan la invasión. Se conoce la existencia de tipos faríngeos (tipos 1, 5, 6, 12, 19, 24), que rara vez se encuentran en las infecciones de la piel, y de tipos cutáneos (serotipos diversos con los números más altos 31, 49, 52), que pueden colonizar la faringe sin síntomas. Sólo un reducido grupo de serotipos pueden producir infecciones cutáneas y faríngeas.

Toxinas

Como más importantes tenemos:

Estreptolisinas. Se han demostrado dos tipos de hemolisinas o estreptolisinas:

La *estreptolisina O*, oxígeno-lábil, que, por combinación con el colesterol de la membrana de los hematíes, es la responsable de la hemólisis en las placas de agar-sangre en profundidad o en condiciones anaerobias. Presenta propiedades tóxicas para los leucocitos (leucocidina) y el tejido cardiaco (cardiotóxica). Es antigénica y en el suero de los enfermos se demuestran anticuerpos que inhiben la hemólisis (antiestreptolisinas O).

La *estreptolisina* S, oxígeno-estable, que, por combinación con los fosfolípidos de la membrana es la responsable de la hemólisis en las placas de agar-sangre en presencia de aire (superficie). Presenta propiedades tóxicas para los leucocitos (leucocidina) y no es antigénica.

Toxina eritrogénica. Es una exotoxina termolábil responsable del exantema de la escarlatina. Está producida por diversos serotipos del grupo A cuando están infectados por un fago moderado (cepas lisógenas) y excepcionalmente por cepas de los grupos C y G. Es antigénica y produce antitoxinas que neutralizan su acción. La inyección intradérmica de 0,1 ml de toxina en las personas susceptibles o no inmunes produce una reacción cutánea de 1 cm de diámetro a las 8-24 horas, *reacción de Dick*, que en las personas inmunes es negativa. La inyección intradérmica de antitoxina a un enfermo produce el *fenómeno local de extinción del exantema* de Schultz y Charlton.

Fermentos

Los más importantes son:

Estreptoquinasa. Transforma el plasminógeno en plasmina o fibrinolisina, fermento que hidroliza el coágulo de fibrina. Es antigénica e induce la aparición de anticuerpos (antiestreptoquinasas). Se emplea en el tratamiento precoz de los procesos vasculares embolizantes o trombóticos, asociado con la heparina, y para facilitar la difusión de medicamentos a través de adherencias y barreras de fibrina.

Estreptodornasa. Desdobla el ADN, disminuyendo la viscosidad del pus y exudados. Es antigénica y se conocen 4 tipos serológicos A, B, C y D. Junto con la estreptoquinasa se emplea en el desbridamento enzimático de las colecciones tabicadas y es responsable del pus más fluido de las supuraciones estreptocócicas, a diferencia del pus estafilocócico más denso y viscoso.

Otros fermentos. De menor importancia son *la hialuronidasa, esterasas, proteinasas* y *nicotinamida-adenina-dinucleotidasas* (NADasas), que actúan sobre el tejido conectivo y contribuyen en gran manera a la difusión de los estreptococos y a la producción de fenómenos inflamatorios y de necrosis.

Cuadros clínicos

Los estreptococos del grupo A producen una gran variedad de procesos, que se pueden dividir en procesos supurados (inespecíficos o específicos) y no supurados, probablemente de tipo inmunológico.

Cuadros inespecíficos

Son infecciones agudas de tipo piógeno, que también pueden ser ocasionadas por otras bacterias. El estreptococo puede producir por acción directa: *infecciones localizadas* en la piel, como las piodermitis y el impétigo, que afectan principalmente a niños de edad preescolar y escolar, y sobre todo en las mucosas (anginas, otitis, sinusitis, abscesos), *infecciones con localización visceral*, cuando el estreptococo por vía linfática o sanguínea produce infecciones en diversos órganos (meningitis, endocarditis) y, por último, *infecciones generalizadas*, como las sepsis estreptocócicas a partir generalmente de heridas o del endometrio. La sepsis puerperal se produce a partir de estreptococos anaerobios procedentes de la mucosa vaginal, que infectan la herida uterina a través de las manos del personal asistente. Muy frecuente en épocas anteriores, en la actualidad se observa muy rara vez.

En este grupo, el cuadro más frecuente es la *angina* o *faringitis estreptocócica*. Es una faringitis exudativa que afecta a los niños de edad escolar, caracterizada por fiebre, cefalalgia, dolor de garganta y vómitos con infarto de los ganglios linfáticos regionales, pero que muchas veces se presenta con escasa sintomatología, y existen un 20 % de formas inaparentes. La faringe se encuentra enrojecida y muchas veces recubierta por un exudado amarillento, en el que se observa predominio de polinucleares. Por cultivo se demuestra la presencia de estreptococos β-hemolíticos y puede detectarse posteriormente una elevación del título de antiestreptolisinas, que no se observa en las infecciones de la piel y permite diferenciar la faringitis estreptocócica del estado de portador. El cuadro es benigno y el niño se restablece en 3-8 días, pero con cierta frecuencia pueden presentarse complicaciones supuradas (sinusitis, otitis, meningitis, neumonía) y no supuradas (fiebre reumática, glomerulonefritis). La infección se produce por contagio directo, gotitas, leche o alimentos contaminados y puede difundir en forma epidémica. Si bien la mayoría de faringitis agudas están producidas por virus (exudado con predominio de mononucleares), cuando son de origen bacteriano en el 95 % de casos, intervienen estreptococos del grupo A, en el 2-5 % de los grupos C o G, y con menor frecuencia otras bacterias (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*).

Cuadros específicos

La *erisipela* (fig. 28-2) es una inflamación de la piel y del tejido celular subcutáneo, de punto de partida cutaneomucoso (comisuras labiales, orificio nasal), que se caracteriza por fiebre, edema, eritema y la presencia de un rodete marginal de color rojo, que presenta una gran tendencia a invadir por contigüidad las zonas vecinas.

La *escarlatina* es un cuadro que se observa generalmente en niños y se inicia por la aparición de faringitis, seguida a las 24-48 horas de la clásica erupción eritemato-papulosa difusa que empieza por el cuello y se extiende al tronco y extremidades. Se demuestra la presencia de estreptococos hemolíticos en la faringe y una elevación del título de anticuerpos frente a la mayoría de antígenos.

En las escuelas, cuando se presenta un caso de escarlatina, se detectan, además, numerosos casos de angina y de portadores sanos, en los que se aíslan estreptococos del mismo serotipo. Se trata de niños que presentan inmunidad antitóxica por infecciones anteriores.

Fig. 28-2. Erisipela. (Por cortesía de M. Cruz Hernández, Departamento de Pediatría, Hospital Clínico y Provincial, Barcelona.)

Aun cuando la escarlatina puede ser debida a diversos serotipos de estreptococo, la toxina producida es la misma. Por ello, como consecuencia de la infección se produce una inmunidad antitóxica que protege de la aparición del exantema escarlatinoso por cualquier serotipo y una inmunidad tipoespecífica que protege de la aparición de anginas sólo por el serotipo causal.

Procesos no supurados o de tipo inmunológico

Se denominan también enfermedades postestreptocócicas, porque aparecen tardíamente, como complicación de infecciones estreptocócicas no tratadas, y se consideran debidas a mecanismos inmunológicos.

Fiebre reumática o reumatismo poliarticular agudo. Aparece después de una angina (no de infecciones cutáneas) en el 1-3 % de la población, especialmente en niños de 5-15 años y se debe a una reacción inflamatoria exudativa y proliferativa que ocurre en el tejido conectivo del corazón y articulaciones (nódulos de Aschoff). Se caracteriza por la aparición de fiebre, poliartritis errática y carditis, que ceden en un período variable (6 semanas a 6 meses), pero que en el 10-50 % de casos presentan tendencia a las recurrencias, cada vez que se produce una nueva infección estreptocócica. En estos casos se va dañando progresivamente el corazón, que evoluciona hacia una cardiopatía reumática de tipo valvular, generalmente de la válvula mitral (estenosis mitral). Se producen anticuerpos frente a la mayoría de antígenos estreptocócicos (especialmente antiestreptolisinas O) y de los tejidos cardiacos. En la actualidad existe un menor riesgo de fiebre reumática probablemente debido a la interrupción de la transmisión en niños como consecuencia del tratamiento antibiótico (penicilina). Por otra parte, se

ha observado que los estreptococos aislados presentan menos desarrollada la cápsula y producen cantidades menores de proteína M.

Glomerulonefritis aguda. Se presenta después de infecciones estreptocócicas de la piel o faringe (impétigo, anginas), especialmente por los tipos 4, 12, 49, 55, 57, 63 y 69 (tipos nefritógenos). Se caracteriza por la aparición de hematuria, albuminuria, edema en la cara y piernas, e hipertensión. Aunque, por lo general, la enfermedad de los niños cura totalmente, a veces puede seguir un curso crónico, aparente o inaparente, que aboca a la esclerosis renal.

En estos dos cuadros se produce un foco de infección y, como el estreptococo no pasa a la sangre, la enfermedad se considera consecuencia de fenómenos de hipersensibilidad retardada o de autoinmunización. En ambos casos se explicaría por las relaciones entre los antígenos del estreptococo y del tejido cardiaco o articular. En la fiebre reumática se han demostrado relaciones antigénicas entre las proteínas de la membrana citoplásmica de los estreptococos del grupo A y el sarcolema de los músculos y del músculo cardiaco, entre el carbohidrato C de la pared celular y una glicoproteína del tejido valvular del corazón y entre la proteína M y el tejido miocárdico, de manera que los anticuerpos producidos frente a dichos antígenos se combinarían con los antígenos correspondientes en el corazón e iniciarían las reacciones que serían la causa de la enfermedad.

En la glomerulonefritis aguda existen datos que permiten suponer la existencia de una relación entre los antígenos de la pared celular (proteína M) y de la membrana citoplásmica del estreptococo con los de la membrana basal del glomérulo, especialmente en los tipos nefritógenos, que podrían actuar ya por acción directa sobre la membrana o previa formación de complejos inmunes específicos que se depositarían en el glomérulo produciendo lesiones o induciendo la aparición secundaria de anticuerpos a partir de los tejidos lesionados (autoanticuerpos). La demostración de Ig en los nódulos de Aschoff y en la membrana del glomérulo apoya estas teorías.

Parece que la corea de Sydenham y el eritema nudoso postestreptocócico deben considerarse en este grupo.

ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO B

Son estreptococos, en su mayoría β-hemolíticos, que descomponen el hipurato sódico y presentan una acción hemolítica sinérgica con *S. aureus* (reacción CAMP). Producen infecciones oportunistas en el hombre y en los animales (mastitis bovina), y la especie tipo es *S. agalactiae*. Además del carbohidrato C grupoespecífico, presentan otros carbohidratos más superficiales tipoespecíficos que han permitido dividir este grupo en 4 serotipos (Ia, Ib, II y III). El tipo III presenta una cápsula de ácido siálico, probablemente relacionada con su meningotropismo. Forman parte de la flora intestinal y colonizan el tracto genital de la mujer por contigüidad, especialmente la vagina y el cuello del útero, y menos veces el aparato respiratorio. Del 10 al 20 % de gestantes se encuentran colonizadas y en los recién nacidos de madres colonizadas se observan estreptococos del grupo B en el 75 %.

Producen infecciones neonatales que pueden ser: *a) De comienzo precoz*, cuando ocurren en los primeros 5 días de vida. Son cuadros de meningitis o infecciones pulmonares caracterizadas por dificultad respiratoria y colapso vascular, asociados con complicaciones del parto (parto prematuro, rotura prolongada de membranas) y que presentan una elevada letalidad (50 %). Los estreptococos suelen ser del tipo I y III, y se transmiten a partir de la madre, ya durante el embarazo por aspiración de líquido amniótico contaminado que pasa al aparato respiratorio o después del parto por vía oral. *b) De comienzo tardío*, que se presentan a partir de los 10 días hasta 3 meses. Son cuadros de meningitis asociados o no con sepsis, que producen una letalidad menor (10-20 %) y en el 95 % de casos están producidos por el serotipo III. Son infecciones hospitalarias transmitidas a partir de la madre, del personal o de otros recién nacidos.

La enfermedad sólo se produciría en recién nacidos de madres sin anticuerpos o con lactancia artificial, pues la ausencia de anticuerpos facilitaría la colonización y la presentación de la enfermedad. En los niños de madres inmunes o con lactancia materna y en los adultos no se produciría la enfermedad, pues se ha observado que las infecciones (clínicas o más frecuentemente inaparentes) se encuentran muy difundidas, a juzgar por la presencia de anticuerpos en la población.

Este grupo puede producir, además, infecciones piógenas en niños pequeños en la piel y mucosas, tracto urinario y aparato respiratorio.

ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO D

Son estreptococos α, γ o β-hemolíticos, que se caracterizan por una mayor resistencia a los agentes externos y son capaces de desarrollarse a 45 °C y en medios con un 40 % de bilis. Los enterococos (*S. faecalis, S. faecium* y *S. avium*) se distinguen por la propiedad de crecer en presencia del 6,5 % de ClNa de los no enterococos (*S. bovis* y *S. equinus*) que no la presentan. Forman parte de la flora intestinal del hombre y de los animales, pero también pueden encontrarse en la boca y en la piel, e intervienen en procesos patógenos en otras localizaciones, en especial otitis, infecciones del tracto urinario, meningitis y endocarditis; *S. faecalis* es el más frecuente.

ESTREPTOCOCOS DE LOS GRUPOS C, G y F

Son muy semejantes al grupo A, inducen la producción de anticuerpos frente a la estreptolisina O (grupo C), estreptoquinasa e hialuronidasa (grupos C y G), y producen con menor frecuencia infecciones diversas: faringitis, infecciones de las heridas, impétigo, abscesos, meningitis, endocarditis, sepsis e incluso escarlatina.

ESTREPTOCOCOS α-HEMOLITICOS O VIRIDANS

Constituyen un conjunto heterogéneo de estreptococos no capsulados, que producen hemólisis α o γ. Dejando aparte los del grupo D, se incluyen especies con algunas cepas agrupables como *S. sanguis* (grupo H) y *S. salivarius* (grupo K). Forman parte de la flora de la cavidad orofaríngea y se han encontrado en la mucosa bucal, faringe, lengua y placa

dental. Son capaces de utilizar la sacarosa de la alimentación para formar polímeros insolubles (glucanos), que son los responsables de su capacidad de adherencia entre sí (aglutinación bacteriana) y en las superficies lisas, como las células epiteliales de la mucosa, y en especial en la superficie del diente, donde contribuyen a la formación de la placa dental.

Producen *bacteriemias* transitorias, debidas a su paso ocasional a la sangre, en el curso de extracciones o afecciones dentarias, cateterismos cardiacos, hemodiálisis, y son la causa más frecuente de *endocarditis bacterianas subagudas*, en las que también pueden intervenir otras especies con menor frecuencia (*Staphylococcus, Haemophilus, Bacteroides*). Por lo general, los estreptococos se fijan en las válvulas cardiacas alteradas (lesiones reumáticas, malformaciones congénitas, prótesis), especialmente en pequeños trombos de fibrina, protegidos de los fagocitos y antibióticos, donde se desarrollan produciendo descargas bacteriémicas constantes (fig. 28-3). La enfermedad se caracteriza por fiebre, anemia, debilidad, soplos cardiacos, esplenomegalia y aparición de frecuentes embolias, y la evolución es grave en los casos no tratados. También puede producir sepsis, neumonías, meningitis, abscesos cerebrales y peritoneales, infecciones de las heridas, etc.

Algunos estreptococos de este grupo (*S. mutans, S. sanguis*) intervienen en la caries dental (fig. 28-4). Estas especies presentan la propiedad de formar polisacáridos insolubles a partir de la sacarosa, que facilitan la adherencia al diente y la formación de la placa. La fermentación de los azúcares e hidrocarbonados de la alimentación por la flora de la placa da lugar a la producción de ácidos que ocasionan la desmineralización del esmalte y la dentina superficial.

Fig. 28-3. Endocarditis subaguda. Corazón mostrando vegetaciones bacterianas. (Por cortesía del Dr. Verger.)

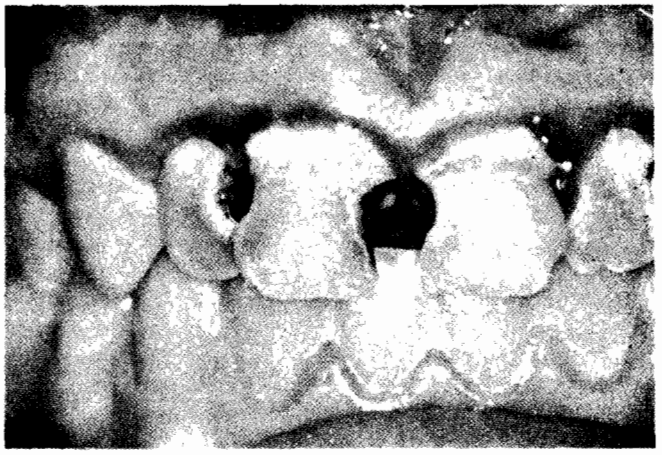


Fig. 28-4. Caries dental. (Por cortesía de A. Nadal, Escuela de Estomatología, Barcelona.)

INMUNIDAD

En las infecciones por el grupo A se produce una inmunidad tipoespecífica, que está asociada con la aparición de anticuerpos frente a la proteína M. En consecuencia, se pueden producir infecciones por otros tipos, lo que explica la facilidad de aparición de fiebre reumática, glomerulonefritis y escarlatina. También se pueden producir infecciones por el mismo tipo cuando se practica un tratamiento precoz con penicilina, que inhibe la respuesta inmune.

Los anticuerpos frente a las diversas enzimas del estreptococo no son protectores y no están relacionados con la inmunidad.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Se basa en el aislamiento e identificación de los estreptococos en los productos obtenidos del enfermo y, en algunos casos, en pruebas serológicas.

Toma de muestras

Debe ser muy selectiva y obtenerse en condiciones asépticas para evitar la contaminación por estreptococos comensales de la piel y mucosas. En las anginas exudativas se practica un frotis faríngeo con hisopo estéril; en los procesos supurados se obtiene una muestra del pus. El transporte y cultivo deben efectuarse lo más rápidamente posible, pues la supervivencia del estreptococo en el producto es corta (1-3 horas), si no se acondiciona debidamente.

Examen directo

En los procesos supurados, la observación, en un frotis, de cocos grampositivos puede orientar el diagnóstico. En los frotis faríngeos no tiene valor por la presencia de estreptococos comensales.

Cultivo

Es el método de elección. El producto patológico (exudado faríngeo, muestra de pus) se siembra por agotamiento en placas de agar-sangre de carnero (sin azúcares, pH 7,2-7,3), y se efectúan varias picaduras en el medio para poder observar mejor la hemólisis. Se incuba una placa en condiciones aerobias con un 10 % de CO_2 y otra en condiciones anaerobias. En los casos de sepsis o de endocarditis se practica un hemocultivo de preferencia en placa (método de

Schottmüller) para obtener un crecimiento en profundidad y observar mejor la hemólisis.

Es importante el empleo de sangre de carnero al 5 %, porque inhibe el desarrollo de *Haemophilus hemolyticus*, que muchas veces se confunde con el estreptococo por presentar β-hemólisis. No debe emplearse sangre humana, porque puede contener anticuerpos y antibióticos que inhiben el desarrollo del estreptococo y, aunque no interfiere con la β-hemólisis, en algunos estreptococos *viridans* produce un tipo especial de hemólisis denominada α' (pequeño halo de hematíes intactos o parcialmente lisados próximos a la colonia, dentro de una zona de hemólisis total), que se confunde fácilmente con la β-hemólisis si no se observan las colonias con lupa.

En los cultivos puede observarse el aspecto macroscópico de las colonias (colonias muy pequeñas, puntiformes, grises, redondas o lenticulares, lisas o rugosas y a veces mucoides), que microscópicamente corresponden a cocos grampositivos, y el tipo de hemólisis, especialmente en las picaduras de las siembras en superficie y en las colonias en profundidad.

También se pueden utilizar medios selectivos como el medio de Gunn con sulfametoxazol-trimetoprim para el aislamiento del grupo A de la faringe y el medio de Fenton con colistina para el aislamiento del grupo B de muestras genitales.

Identificación

El diagnóstico de género se efectúa por el aspecto macro y microscópico de las colonias, y los estreptococos se diferencian de los estafilococos en que no producen catalasa y de los neumococos en que no se lisan por la bilis ni se inhiben por la optoquina.

La *identificación del grupo antigénico* (clasificación de Lancefield) se efectúa caracterizando la sustancia C por diversos métodos serológicos, con la ayuda de sueros específicos.

Se obtienen extractos de la cepa problema que contengan el antígeno C por hidrólisis ácida a 100 °C (método de Lancefield), con formamida a 160 °C (Fuller), en autoclave a 120 °C (Rantz y Randall) o por métodos enzimáticos (*Streptomices albus*, pronasa B o *S. albus* más lisozima), que posteriormente se enfrentan con los sueros específicos correspondientes en una reacción de precipitación (reacción en anillo, inmunodifusión o contrainmunoelectroforesis).

También se pueden emplear técnicas de inmunofluorescencia (grupos A y B), de coaglutinación y de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas (grupos A, B, C, D, F y G). Estas últimas se basan en fijar los anticuerpos específicos de los diferentes grupos por su extremidad Fc en la proteína A de *S. aureus* o en partículas de látex, que en presencia de la cepa problema darán lugar a reacciones de coaglutinación o, en presencia de sus extractos antigénicos, a reacciones de aglutinación pasiva. Estas técnicas permiten el diagnóstico rápido de los principales grupos de estreptococos a partir de las colonias obtenidas en las placas de aislamiento. El polisacárido del grupo B puede detectarse en el LCR y orina de casos de meningitis por contrainmunoelectroforesis en presencia del suero específico, y por métodos rápidos de aglutinación pasiva de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos específicos. En las embarazadas y niños colonizados, la reacción es negativa.

En los laboratorios de diagnóstico puede efectuarse la *identificación presuntiva del grupo antigénico* por métodos rápidos de rutina, basados en el tipo de hemólisis, y algunas pruebas fisiológicas, cuya consideración conjunta permite llegar al diagnóstico en el 95 % de los casos (tabla 28-5).

1. El grupo A se identifica por producir β-hemólisis e inhibirse por un disco de bacitracina (fig. 28-5). Existe un pequeño porcentaje de errores debido a que algunas cepas del grupo A no se inhiben por la bacitracina, y en cambio, otras cepas β-hemolíticas de los grupos B, C, F y G y no hemolíticas (grupo *viridans*, *S. pneumoniae*) sí lo hacen, casos que se pueden solucionar por la hidrólisis de la pirrolidonil-β-naftilamida (PYR), que es más específica.

Tabla 28-5. Identificación presuntiva de los estreptococos

Familia *Streptococcaceae*	Hemólisis	Inhibición: Optoquina	Inhibición: Bacitracina	Hidrólisis del hipurato-Na	Crecimiento: BE	Crecimiento: ClNa al 6,5 %	Sensibilidad: ST o MT
Cocos gram + / Catalasa –	Beta	15 mm	+ (PYR +)				Grupo A
			+				Grupo B
			–	+	–	+	Grupo D (enterococo)
			–	+	+	–	Grupo D (no esterococo)
			–	–	–	+	Grupos C, G, F
	Alfa	< 15 mm	+*	–*	–*	–	Grupo *viridans*
		> 15 mm	±	–	–	+	*S. pneumoniae*

*Algunas excepciones.
BE: medio bilis-esculina; ST: discos de sulfametoxazol-trimetoprim; MT: discos de metotrexato; PYR: pirrolidonil-β-naftilamida.

2. El grupo B se identifica por ser β-hemolítico, producir la hidrólisis del hipurato sódico y el factor CAMP, y ser resistente ante un disco de metotrexato (2 μg). Los estreptococos del grupo B secretan el factor CAMP, que produce una acción hemolítica sinérgica con cepas de *S. aureus* productoras de hemolisina β, cuando se siembran en estrías perpendiculares en placas de hemolisinas β, agar-sangre (hemólisis en punta de flecha) (fig. 28-6). La hidrólisis del hipurato sódico también puede ser producida por algunas cepas del grupo D, que se diferencian por crecer en agar-bilis-esculina.

3. El grupo D se identifica por crecer en agar-bilis-esculina y ennegrecer el medio. Dentro de este grupo, los enterococos se diferencian, además, por crecer en medios con un 6,5 % de ClNa. Los estreptococos del grupo B que crecen en medios hipersalados no se desarrollan en agar-bilis-esculina. Hay que tener en cuenta que un cierto número de especies del grupo *viridans* (10-20 %) pueden ser bilis-esculina-positivos y, por tanto, identificados erróneamente como estreptococos del grupo D no enterococos.

4. Los estreptococos β-hemolíticos de los demás grupos (C, G, F) se identifican por dar respuesta negativa a estas pruebas y ser susceptibles al cotrimoxazol y metotrexato.

5. Los estreptococos *viridans* no agrupables se identifican por producir hemólisis α o β, dar respuesta negativa a estas pruebas y ser también sensibles al cotrimoxazol y metotrexato. Se diferencian del neumococo por ser insolubles en bilis y resistentes a la optoquina.

La sensibilidad a un disco de sulfametoxazol-trimetoprim (cotrimoxazol) en presencia de antagonistas (medio TSA con 5 % sangre de carnero) permite diferenciar los estreptococos de los grupos A, B y D (enterococos), que son resistentes, de los grupos D (no enterococos), C, G, F y grupo *viridans*, y *S. pneumoniae*, que son sensibles. Se observan algunas excepciones que se pueden obviar con un disco de 5 μg de metotrexato.

La identificación de las especies del grupo D y *viridans* se efectúa por pruebas bioquímicas (tablas 28-2 y 28-3).

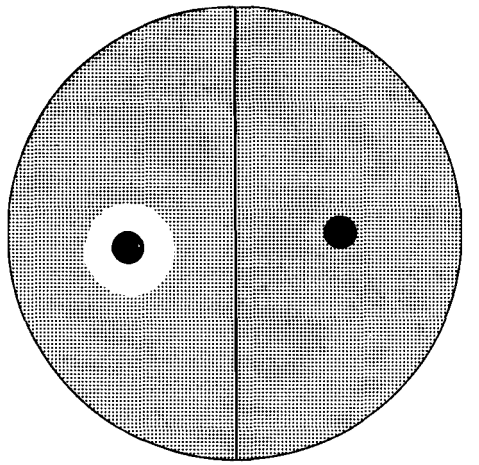


Fig. 28-5. *Streptococcus* β-hemolítico del grupo A. Inhibición por disco de bacitracina.

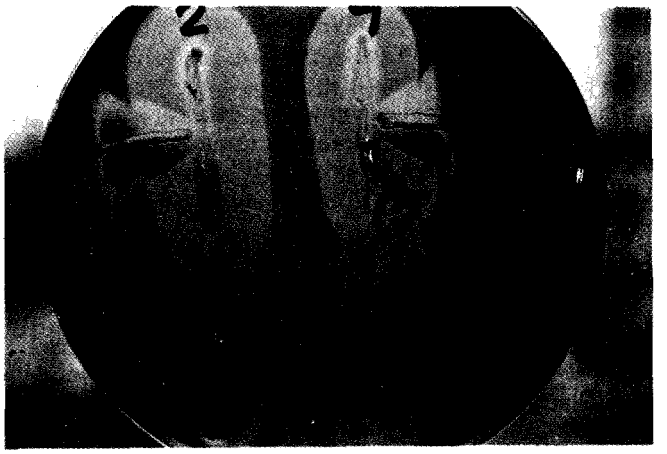


Fig. 28-6. Reacción CAMP.

Pruebas serológicas

Se basan en la demostración, en el suero del enfermo, de anticuerpos frente a las diversas toxinas y enzimas del estreptococo del grupo A, en especial antiestreptolisinas O (ASO), antihialuronidasas (ASH), antiestreptoquinasas (ASK), antiestreptodornasas B y anti-ADNasas.

Por lo general se determina el título de antiestreptolisinas O (ASO). La reacción se basa en que los anticuerpos contenidos en el suero del enfermo (antiestreptolisinas O), al neutralizar la hemolisina (estreptolisina O), inhibirán la hemólisis, a tanto mayor título o dilución cuanto mayor sea la cantidad de anticuerpos que contenga. El título se expresa en unidades Todd y se considera que los sueros humanos normales tienen un título máximo entre 120 y 140 U según la edad. Cuando se practica una sola prueba, si el título obtenido es muy elevado (1.600 U), es significativo de infección reciente, pero si se obtiene un título intermedio (125-500 U), es difícil dilucidar si se trata de una infección reciente o títulos residuales de una infección anterior. Es más seguro detectar un aumento significativo del título entre dos muestras de suero, una obtenida precozmente al comienzo de la infección y otra varias semanas después. Sin embargo, la administración de antibióticos puede interferir con el aumento del título.

Esta prueba se utiliza en el diagnóstico de la fiebre reumática. Se ha observado que, por lo general, la reacción es negativa en infecciones estreptocócicas de la piel no complicadas y positiva en los enfermos con angina y fiebre reumática, y el título está en relación con la evolución de la enfermedad. Si en una infección estreptocócica se detecta una elevación del título de ASO, existe un alto riesgo de fiebre reumática.

En los casos de fiebre reumática con ASO negativas, se puede determinar la presencia de aumentos significativos de antiestreptoquinasas (ASK), antihialuronidasas (ASH) y en especial antiestreptodornasas B, que también son positivas en las infecciones de la piel y permanecen elevadas durante más tiempo, e incluso de otros anticuerpos estreptocócicos. Existen en el comercio *kits* para la determinación de anticuerpos frente a 5 antígenos estreptocócicos (estreptolisina O, hialuronidasa, estreptoquinasa, NADasa y ADNasa B) por la técnica de la hemaglutinación pasiva (hematíes de carnero sensibilizados), que se emplean como pruebas de selección.

TRATAMIENTO

Para los estreptococos del grupo A, la penicilina es el antibiótico de elección, cura las infecciones agudas y reduce o evita la aparición de la fiebre reumática y las recurrencias. En los casos de angina o faringitis estreptocócica se recomienda una inyección de penicilina benzatina de 600.000-1.200.000 U, que produce niveles apreciables durante 1 mes, o la administración oral de 125 mg de penicilina, 4 veces al día, durante 10 días. En casos de alergia a la penicilina se sustituye ésta por eritromicina (10 días). No deben administrarse tetraciclinas, pues se encuentran con frecuencia cepas resistentes (20-40 %). En general no es necesario practicar el antibiograma, a no ser que se trate de casos de endocarditis. Los demás estreptococos hemolíticos (grupos B, C, F y G), incluidos los del grupo D (no enterococos), por lo general son también sensibles.

Los estreptococos *viridans* son sensibles a la penicilina, con un 5-20 % de cepas menos sensibles según las especies, y los enterococos son más resistentes, pero sensibles en general a la ampicilina, vancomicina y cotrimoxazol. Como su sensibilidad a los demás antibióticos varía ampliamente, se aconseja un antibiograma.

PROFILAXIS

Quimioprofilaxis

En las infecciones postestreptocócicas (fiebre reumática, glomerulonefritis y endocarditis) se basa en:

1. Diagnóstico y tratamiento precoz con penicilina (10 días) de las infecciones estreptocócicas agudas.
2. Quimioprofilaxis de larga duración en las personas que han sufrido un ataque de fiebre reumática, para evitar las recurrencias y la posible aparición de una cardiopatía reumática. Se aconseja la administración de una inyección al mes de penicilina retardada (benzatina) de 1,2-2,4 millones U o la administración oral diaria durante largo tiempo.
3. Quimioprofilaxis de corta duración en las personas con alteraciones valvulares, durante las exodoncias e intervenciones quirúrgicas del aparato respiratorio, digestivo o genitourinario, para combatir las bacteriemias que se producen a partir de estreptococos de la flora normal (estreptococos α-hemolíticos) y evitar la aparición de endocarditis.

El tratamiento de los portadores de estreptococos A con penicilina por lo general es poco eficaz.

Vacunas

El conocimiento de los antígenos responsables de la virulencia y los avances efectuados en la obtención de antígenos purificados han permitido preparar vacunas y realizar ensayos para la profilaxis de las enfermedades producidas por los grupos más importantes.

En el grupo A se conoce que los anticuerpos frente a la proteína M son los responsables de la inmunidad, que es tipoespecífica. Se estudia la preparación de vacunas polivalentes incorporando la proteína M de los tipos más frecuentes e intentando evitar los problemas de toxicidad y reactividad cruzada con el tejido cardiaco. En los ensayos efectuados se han detectado con cierta frecuencia casos de fiebre reumática en el grupo vacunado.

En el grupo B se ha demostrado que los anticuerpos frente al polisacárido tipoespecífico presentan una acción protectora en los animales de experimentación, y se está intentando purificar y concentrar estos antígenos para preparar una vacuna que sea eficaz en la prevención de las infecciones neonatales (meningitis y sepsis) mediante la vacunación de las gestantes durante el tercer trimestre del embarazo, para así obtener títulos elevados en el momento del parto.

BIBLIOGRAFIA

Badri, M. S.: Rectal colonization with group B *Streptococcus*, relation to vaginal colonization of pregnant women. J. Infect. Dis., 135, 308-312, 1977.

Baker, J. C.: Summary of the workshop on perinatal infections due to group B *Streptococcus*. J. Infect. Dis., 136, 137-152, 1977.

Beachey, E. H., y Ofek, I.: Epithelial cell binding of group A streptococci by lipoteichoic acid on fimbriae denuded of M protein. J. Exp. Med., 143, 759, 1976.

Bergogne Berezin, E., y Slim, A.: Le diagnostic de groupe des Streptocoques. Ann. Biol. Clin., 34, 329-333 y 415-421, 1976.

Breese, B. B., y Hall, C. B.: Beta Hemolytic Streptococcal Diseases. Houghton Mifflin, Boston, 1978.

Colman, G.: The Viridans Streptococci. En Louvois, J. (dir.): Selected Topics in Clinical Bacteriology, 179-198. Baillière Tindall, London, 1976.

Coll Figa, P.; Mirelis Otero, B.; Ausina Ruiz, V., y Prats Pastor, G.: A new disk diffusion test for presumptive identification of group B streptococci, Eur. J. Clin. Microbiol., 4, 66-68, 1985.

Darling, C. L.: Standardization and evaluation of the CAMP test for the presumptive identification of *S. agalactiae* (Lancefield group B) in clinical material. J. Clin. Microbiol., 1, 171-174, 1975.

Deibel, R. H.: The group D streptococci. Bacteriol. Rev., 28, 330-366, 1964.

Deibel, R. H., y Seeley, H. W., Jr.: *Streptococcaceae*. En Buchanan, R. E., y Gibbons, N. E. (dirs.): Bergey's manual of determinative bacteriology, 8.ª ed., 490-509. Williams and Wilkins, Baltimore, 1974.

Ederer, G. M., y Chapman, S. S.: Simplified fluorescent antibody staining method for primary plate isolates of group A streptococci. Appl. Microbiol., 24, 160-161, 1972.

Facklam, R. R.: Physiological differentiation of viridans streptococci. J. Clin. Microbiol., 5, 184-201, 1977.

Facklam, R. R.; Padula, E. C.; Worthman, R. C.; Cooksey, y Rountree, H. A.: Presumptive identification of group A, B and D Streptococci on agar plate media. J. Clin. Microbiol., 9, 665-672, 1979.

Fenton, L. J., y Harper, M. H.: Direct use of counterimmunoelectrophoresis in detection of group B streptococci in specimens containing mixed flora. J. Clin. Microbiol., 8, 500-502, 1978.

Gunn, B. A.: SXT and Taxo A disks for presumptive of group A and B streptococci in throat cultures. J. Clin. Microbiol., 4, 192-193, 1976.

Kaplan, M. H.: Immunologic relation of streptococcal and tissue antigens. J. Exp. Med. 146, 579-599, 1977.

Krause, R. M.: Prevention of streptococcal sequelae by penicillin prophylaxis. J. Infect. Dis., 131, 592-601, 1975.

Polli, G. M.; Waldman, R. H.; High, P.; Wittner, M. K.; Dorfman, A., y Fox, E. N.: Protective Studies with a group A Streptococcal M Protein Vaccine. J. Infect. Dis., 131, 217-222, 1975.

Slifkin, M.; Engwall, C., y Pouchet, G. R.: Direct plate serological grouping of beta hemolytic streptococci from primary isolation plates with Phadebact streptococcus test. J. Clin. Microbiol., 7. 356-360, 1978.

Capítulo 29

Streptococcus pneumoniae (neumococo)

Agustín Pumarola

CONCEPTO Y CLASIFICACION

Son cocos grampositivos, de forma lanceolada, que se disponen dos a dos *(diplococos)* o en pequeñas cadenas *(Streptococcus pneumoniae)*, rodeados de una cápsula de naturaleza poliósida, que permite su clasificación en tipos serológicos (fig. 29-1). Al igual que los estreptococos, no producen catalasa, pero se diferencian por ser solubles en bilis y sensibles a la optoquina. Son microorganismos más exigentes y difíciles de cultivar, y presentan una gran sensibilidad a los agentes externos.

Se encuentran en la flora normal del aparato respiratorio superior (mucosa orofaríngea), y aunque pueden producir afecciones en personas sanas, se comportan comúnmente como patógenos potenciales e intervienen en diversos procesos patológicos de carácter piógeno, en especial neumonías y afecciones inflamatorias de las estructuras vecinas.

En la estructura antigénica del neumococo pueden distinguirse de fuera a dentro el antígeno capsular y los antígenos de la pared celular (proteína M y sustancia C):

1. El *polisacárido capsular*, o sustancia soluble específica (SSS), es un antígeno tipoespecífico responsable de la virulencia. Se han demostrado, sin embargo, reacciones cruzadas entre algunos serotipos.
2. La *proteína M*, que también es tipoespecífica, pero no está relacionada con la virulencia.
3. La *sustancia C* es un antígeno grupoespecífico común a todos los neumococos. Está constituida por ácidos teicoicos formados por polímeros de fosfato de ribitol. Este antígeno puede ser precipitado por una sustancia presente en el suero de las personas con procesos inflamatorios, infecciosos o no, denominada proteína C reactiva, que se ha identificado con una seroglobulina inespecífica del tipo β_2.

El polisacárido capsular permite la clasificación del neumococo en 83 tipos serológicos. El tipado capsular se efectúa por la reacción del hinchamiento de la cápsula *(Quellungsreaktion)* o de precipitación capsular; se basa en que la adición a una suspensión de neumococos (cultivo, esputos, punción pulmonar) de una gota del suero tipoespecífico correspondiente da lugar a la formación de un precipitado intracapsular, con marcado aumento de refringencia de la cápsula, que produce la impresión de estar aumentada de tamaño. La inmunidad es tipoespecífica, de manera que la infección por un tipo no protege frente a la infección por los restantes. El tipado capsular era importante antes del descubrimiento de los antibióticos, cuando la curación del enfermo dependía de la administración del suero tipoespecífico correspondiente. En la actualidad se emplea con fines epidemiológicos y para determinar si el neumococo aislado pertenece a los tipos más patógenos.

Los tipos 1-9 son los más patógenos, especialmente para los adultos. Se ha demostrado que la mayoría de neumonías y bacteriemias están producidas por un grupo reducido de tipos. Así, en Estados Unidos, el 90 % de estos procesos en los adultos están producidos por 23 tipos.

ACCION PATOGENA

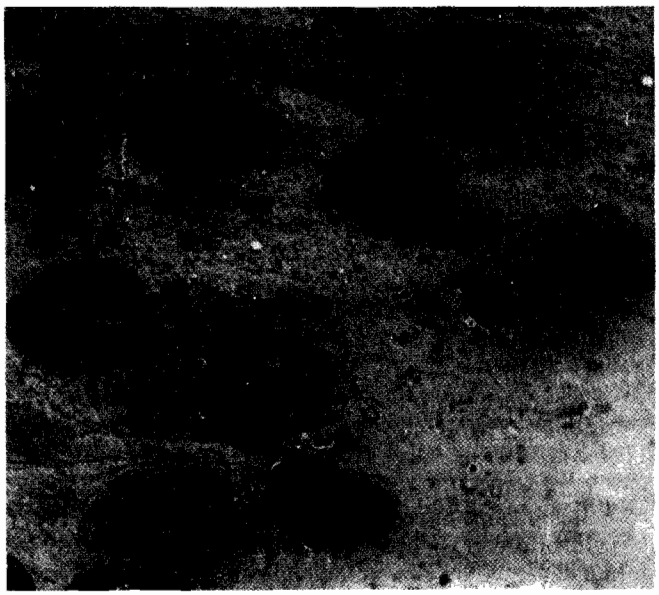
La acción patógena del neumococo depende de su capacidad de multiplicación en los tejidos del huésped, en estrecha relación con el polisacárido capsular, responsable de la virulencia por su acción antifagocitaria (v. cap. 16). Además, el polisacárido capsular es una sustancia soluble que a partir del foco de infección difunde por los tejidos del huésped, donde se combina con los anticuerpos de reciente formación y evita la fagocitosis de los neumococos en el foco de infección. De ahí que en algunos casos pueda detectarse en la sangre, orina y LCR, lo que es un mal pronóstico. El tipo 3 que presenta la cápsula de mayor tamaño (colonias mucosas) produce las formas más graves y de letalidad más elevada. Las cepas no capsuladas son apatógenas.

No parece que en la acción patógena intervenga la formación de toxinas y fermentos.

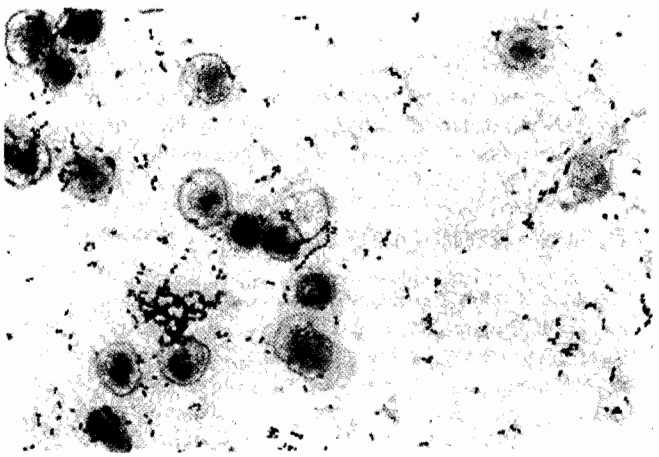
El neumococo se considera como bacteria fundamentalmente invasora, cuya acción patógena se explicaría por su capacidad de multiplicación e invasión de los tejidos. La inoculación de neumococos (pus, esputos, LCR) al ratón por vía intraperitoneal produce su muerte en 24 horas por sepsis neumocócica, y puede aislarse el microorganismo en cultivo puro de la sangre del corazón y del cerebro. En las primeras horas se encuentran en el exudado peritoneal abundantes formas capsuladas.

PATOGENIA Y CUADROS CLINICOS

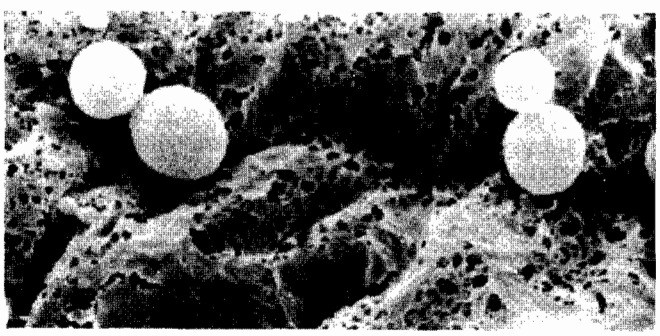
El neumococo es un componente de la flora normal de la rinofaringe en el 15-60 % de personas. La colonización se



A



B



C

Fig. 29-1. *Streptococcus pneumoniae.* Microscopio ordinario: A) Morfología típica en esputo (diplococo lanceolado y capsulado). B) Cultivo. C) Microfotografía electrónica de cultivo (× 20.000).

inicia ya a partir del nacimiento y la adquisición de un nuevo serotipo va seguida de la aparición de anticuerpos bactericidas en el suero frente al polisacárido capsular correspondiente, que explica el grado limitado de resistencia natural que se observa. La infección se produce cuando concurren factores del microorganismo (neumococos virulentos, serotipos recién adquiridos en personas sin anticuerpos tipoespecíficos) o factores predisponentes del huésped, locales o generales, que disminuyen la eficacia de los mecanismos de defensa. Aunque puede producir infecciones en adolescentes y adultos sanos, en la mayoría de casos se comporta como un germen oportunista que produce infecciones en niños y personas de edad avanzada, o cuando intervienen *factores predisponentes*, locales o generales, que disminuyen la resistencia orgánica. Entre los *factores locales* hay que considerar las infecciones respiratorias que puedan afectar el pulmón, como la gripe, adenovirosis y fiebre Q, procesos broncopulmonares crónicos tributarios de técnicas de respiración asistida, procesos alérgicos, como el asma bronquial, que producen un aumento de la secreción de moco que dificulta la fagocitosis, inhalación de gases tóxicos que irritan la mucosa, reposo prolongado en cama y en general cualquier proceso que facilite la aspiración de secreciones respiratorias, y como *factores generales*, la fatiga, enfriamiento, alcoholismo, ciertas enfermedades, como la nefrosis lipoidea, anemia de células falciformes, enfermedad de Hodgkin e inmunodeficiencias, que, además, representan un factor de agravación o muerte, y algunos tratamientos, como el empleo de antibióticos de amplio espectro e inmunodepresores.

Cuando concurren estos factores, el neumococo a partir de la rinofaringe atraviesa la mucosa, penetra en el organismo y puede dar lugar a procesos patógenos diversos, de naturaleza piógena, cuya gravedad está en relación con la importancia de las reacciones fibrinosas que tabican las lesiones, aíslan el germen y hacen que sea más difícil la llegada de anticuerpos y antibióticos al foco de infección. Se ha señalado que algunos componentes de la pared celular del neumococo pueden llegar a activar el complemento por la vía alternativa, lo que quizá podría explicar los casos de extrema gravedad debidos a coagulación intravascular diseminada.

Neumonía lobar. El neumococo es la causa del 80 % de neumonías bacterianas y en especial de la neumonía lobar. Por lo general se producen por aspiración, precedidas de infecciones de las vías respiratorias altas y pocas veces por vía linfática o hemática. El neumococo llega al alveolo pulmonar, donde por su acción antifagocitaria puede establecerse, multiplicarse y dar lugar a un proceso inflamatorio con edema alveolar. Se produce el paso de un exudado fibrinoso y gran número de leucocitos y hematíes a los alveolos y bronquiolos, que posteriormente se coagulan con hepatización de amplias zonas de pulmón y afectación de la pleura parietal. Se ha podido comprobar que no se presentan fenómenos de necrosis, lo que explica que el parénquima no se destruya y se pueda llegar a una *restitutio ad integrum*.

El cuadro clínico se inicia bruscamente con escalofríos, fiebre, tos, punta de costado, disnea y emisión de un esputo herrumbroso, en el que se observan hematíes, leucocitos polinucleares y diplococos grampositivos capsulados. Existe leucocitosis con desviación a la izquierda, y la imagen radiológica revela la ocupación de un lóbulo o segmento de pulmón (fig. 29-2). Cuando la fiebre es elevada, en el 15-30 % de casos se produce bacteriemia.

Más tarde entran en acción los macrófagos, que inician la eliminación de las células y bacterias por el mecanismo de

la «fagocitosis en superficie», pero cuya intensidad se incrementa extraordinariamente cuando a los 7-10 días aparecen anticuerpos libres, una vez que se han combinado con el polisacárido capsular que se encuentra en los tejidos, momento en el que se produce la desaparición de los síntomas clínicos del enfermo, por «crisis». La curación clínica no marcha paralela con la curación anatómica, ya que se necesitan de 4 a 8 días más para que los macrófagos y fermentos celulares dejen los alveolos en estado normal. La administración de antibióticos bacteriostáticos acorta la duración del proceso, pero el empleo de antibióticos bactericidas, como la penicilina, puede producir la curación en ausencia de anticuerpos.

El neumococo también es la causa de *bronconeumonías, abscesos de pulmón* y *pleuresías purulentas.*

Procesos piógenos de los órganos vecinos. Pueden producirse *sinusitis* y *otitis* por contigüidad en los niños, o a partir de un foco infeccioso pasar a la circulación, localizarse en otros órganos y provocar artritis, endocarditis, peritonitis y meningitis. El neumococo es la causa más frecuente de *meningitis purulentas* en los mayores de 25 años, aunque también se puede presentar, al igual que el meningococo, en niños pequeños (30 %). Por punción lumbar se obtiene un líquido turbio, caracterizado por la presencia de leucocitos polinucleares y neumococos. El neumococo también puede producir, ocasionalmente en los niños, *procesos septicémicos* y *procesos febriles sin localización.*

INMUNIDAD

Los anticuerpos frente al polisacárido capsular son los anticuerpos protectores por excelencia, responsables de la inmunidad tipoespecífica, de manera que se pueden producir infecciones por los restantes tipos. La demostración de anticuerpos en el suero de los portadores hace pensar que probablemente el peligro de infección, cuando concurren factores predisponentes, se origine en los portadores recientes, durante las primeras semanas de la colonización cuando aún no se ha producido una respuesta inmunitaria eficaz.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Se efectúa por aislamiento e identificación del neumococo o la demostración de antígeno capsular en los productos del enfermo.

Toma de muestras

El producto (exudado faríngeo, esputos, LCR) debe recogerse en recipientes estériles y en condiciones adecuadas. Los esputos deben ser recientes y obtenerse en presencia del personal asistente. En los frotis faríngeos, dada la labilidad del neumococo a la solución salina y a la desecación, los hisopos deben colocarse en tubos que contengan una pequeña cantidad de medio de cultivo líquido. En todos los casos, la muestra, por su labilidad a la temperatura, debe transportarse rápidamente al laboratorio, donde puede conservarse durante un corto período en la nevera.

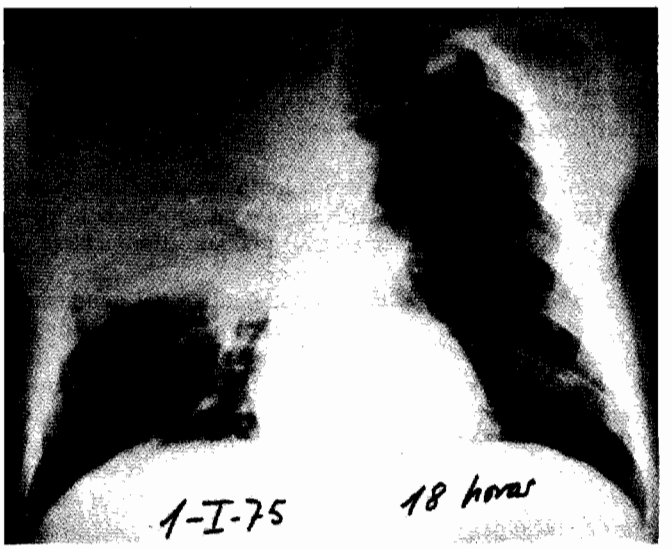


Fig. 29-2. Radiografía de neumonía lobar.

Examen directo

En los frotis teñidos por el método de Gram, cuando el neumococo presenta la morfología típica (diplococo lanceolado, grampositivo, con las puntas hacia fuera y rodeado de un halo claro), existe una fuerte presunción diagnóstica. Esto ocurre en los frotis de esputos y LCR, en enfermos no tratados, en que se observan leucocitos y neumococos típicos. La cápsula se demuestra muy bien por tinción negativa con tinta china. Sin embargo, en los enfermos tratados se observan menos leucocitos, y los neumococos pueden presentar formas atípicas (ovoide, en cadena corta) y ser gramnegativos. En estos casos es imposible diferenciar por el método de Gram los neumococos de los estreptococos, y es necesario proceder a métodos de cultivo.

Cultivo

Se deben practicar siembras por agotamiento en placas recientes de agar-sangre de carnero con una atmósfera de un 10 % de CO_2. A las 15-17 horas se observan colonias muy pequeñas (1 mm), planoconvexas y transparentes como gotas de rocío, rodeadas de una pequeña zona de α-hemólisis, que a las 24-36 horas se aplanan y adoptan forma de disco. Con el tiempo, los fenómenos de autólisis son más acentuados; aparece una depresión central, colonias en anillo, o una depresión anular con un botón central, colonias en pulsador, y, por lo general, en estos casos, los diplococos son gramnegativos. Los neumococos tipo III producen colonias mucosas. La morfología de las colonias debe observarse con lupa (× 20-40). Si el producto está contaminado, se puede inocular a un ratón por vía intraperitoneal, pues, al ser los neumococos más patógenos para el ratón que los restantes microorganismos, se desarrollan rápidamente y pueden aislarse a las pocas horas del líquido peritoneal y más tarde de la sangre.

En los casos de sepsis o endocarditis y en los de neumonía cuando la fiebre es elevada, se debe practicar un hemo-

cultivo. En enfermos tratados con penicilina no se mejora su aislamiento añadiendo penicilinasa al medio.

Identificación

En los cultivos se observan colonias α-hemolíticas, compuestas por cocos grampositivos que no producen la reacción de la catalasa ni en general pueden diferenciarse de los estreptococos *viridans*.

Las pruebas de identificación presuntiva del neumococo se basan en su solubilidad en la bilis o en soluciones de desoxicolato sódico y en la sensibilidad a la optoquina. Esta prueba es la más utilizada para el diagnóstico de rutina; se realiza colocando un disco de 10 mm que contiene 5 µg de etilhidrocupreína (optoquina) en una placa de agar-sangre recién sembrada, y a las 24 horas de incubación se observa un área de inhibición del cultivo de 15 mm o mayor alrededor del disco.

Las pruebas de identificación de especie se basan en la reacción del hinchamiento de la cápsula en presencia de un suero antineumocócico polivalente. La unión del polisacárido capsular con el anticuerpo correspondiente forma un precipitado intracapsular, que aumenta su refringencia. La identificación del tipo antigénico del neumococo causal o tipado capsular pueden efectuarse mediante el empleo de sueros monovalentes.

Demostración del antígeno capsular

Cuando los cultivos son negativos, sobre todo en enfermos tratados, se puede llegar en algunos casos al diagnóstico por la demostración del antígeno capsular en los líquidos tisulares (LCR, orina, líquido pleural, esputos y exudado obtenido por punción transtraqueal) mediante pruebas de precipitación y especialmente de contrainmunoelectroforesis frente a sueros específicos polivalentes (fig. 29-3).

Interpretación

El aislamiento de un neumococo a partir del LCR, hemocultivo, colecciones cerradas o punción pulmonar o transtraqueal es diagnóstico. Pero a partir de otros productos como exudados faríngeos y en especial de esputos, en los que pueden encontrarse neumococos por formar parte de la flora normal, la interpretación del resultado es más delicada. En estos casos, sólo *a)* si se obtienen en cultivo puro, *b)* si la mayoría de colonias son de neumococos o c) si, aunque en número más escaso, son de los tipos más patógenos (1, 2, 3, 4, 7, 8 y 12), el neumococo se puede considerar como el agente causal del proceso. En el caso de esputos, la observación de numerosos leucocitos polinucleares puede ser un dato a favor de un proceso neumocócico.

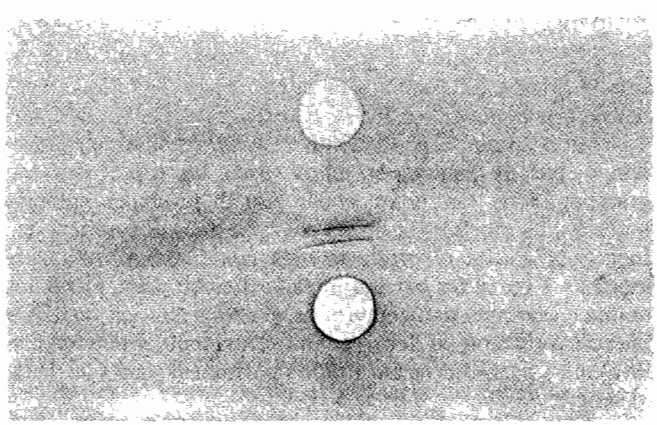


Fig. 29-3. Contrainmunoelectroforesis.

TRATAMIENTO

Los neumococos en general son muy sensibles a los antibióticos, y la penicilina es el antibiótico de elección. Sin embargo, la aparición de cepas con sensibilidad disminuida o resistentes a la penicilina (1-16 %) y aun de algunas cepas multirresistentes ha obligado a la práctica del antibiograma.

En casos de resistencia o en pacientes alérgicos a la penicilina, se aconseja la administración de eritromicina, cefotaxima, rifampicina o vancomicina. Existe un porcentaje variable de cepas resistentes a las tetraciclinas y más elevado frente al cloranfenicol. Los neumococos no son sensibles a los aminoglucósidos.

Hay que tener en cuenta que las reacciones fibrinosas y los tabicamientos pueden ser un obstáculo para la difusión del antibiótico, y en estos casos debe combinarse el tratamiento oral con la administración local del antibiótico o con medidas quirúrgicas de drenaje.

PROFILAXIS: VACUNAS

La profilaxis se basa: *a)* en la actuación sobre los factores predisponentes, que son la causa fundamental de la enfermedad, y *b)* en el diagnóstico y tratamiento precoz de los casos.

La demostración de que los anticuerpos frente al polisacárido capsular purificado presentan una acción protectora tipoespecífica y la posibilidad de asociar diversos polisacáridos purificados ha permitido la preparación de vacunas polivalentes con los polisacáridos de los tipos que producen con mayor frecuencia procesos patógenos.

En Estados Unidos se ha autorizado el empleo de una vacuna polivalente compuesta por los polisacáridos de 23 tipos (1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 12, 14, 17, 19, 20, 22, 23, 26, 34, 43, 51, 54, 56, 57, 68 y 70) a la concentración de 50 µg/ml por antígeno, que a la dosis de 0,5 ml, induce una respuesta inmunitaria de larga duración en los niños mayores de 7 años y está indicada para la prevención de la neumonía y meningitis en los adultos y personas de edad avanzada y en aquellos que presentan factores y enfermedades predisponentes. Aunque el orden de frecuencia de los serotipos que producen infecciones en la infancia difiere del propio del adulto, todos se incluyen entre los 15 tipos más frecuentes.

Como la gripe constituye un factor predisponente, se ha sugerido la conveniencia de administrar simultáneamente ambas vacunas de interés para la prevención de la neumonía en personas con riesgo elevado.

BIBLIOGRAFIA

Jacobs, M. R.; Kornhof, H. J.; Robins Browne, R. M.; Stevenson, C. M., y cols.: Emergence of multiply resistant pneumococci. N. Engl. J. Med., 299, 735-740, 1978.

Quie, P. G.; Giebink, G. S., y Winkelstein, J. A. (dirs.): The *Pneumococcus*. Rev. Infect. Dis., v3, 183-396, 1981.

Kass, E. H.: Assessment of the pneumococcal vaccine. Rev. Infect. Dis., v3 (suppl.); S1-S197, 1981.

Jacobs, M. R., y Koornhof, H. J.: Multiple antibiotic resistance: now the pneumococcus. J. Antimicrob. Chemother., 4, 481-483, 1978.

Capítulo 30

Neisseria: N. meningitidis

Agustín Pumarola

GENERO NEISSERIA

La familia *Neisseriaceae* está compuesta por cocos o cocobacilos gramnegativos aerobios, con tendencia a agruparse por parejas. Se divide en 4 géneros: *Neisseria, Kingella, Acinetobacter* y *Moraxella* con el subgénero *Branhamella*, que, presentando la misma estructura y composición, producen catalasa y oxidasa con pocas excepciones (tabla 30-1). El género *Neisseria* y el subgénero *Branhamella* muestran caracteres morfológicos y metabólicos semejantes. Los géneros *Moraxella* y *Acinetobacter*, por su morfología cocobacilar y propiedades metabólicas, acostumbran estudiarse entre los bacilos gramnegativos no fermentadores (v. cap. 42). El género *Kingella* se diferencia por no producir catalasa y fermentar la glucosa y algunos carbohidratos con formación de ácido. Los cocos gramnegativos anaerobios se clasifican en la familia *Veillonellaceae*.

El género *Neisseria* es el más importante y está constituido por cocos gramnegativos aerobios, con tendencia a agruparse por parejas, en forma de grano de café (fig. 30-1). Producen oxidasa (citocromo-oxidasa) y catalasa, y atacan los azúcares por oxidación. Agrupan especies parásitas del hombre o de los animales, que sobre la base de su acción patógena pueden dividirse en dos grandes grupos:

1. Especies muy exigentes, que sólo se cultivan en medios especiales a temperaturas de 35-37 °C y son muy sensibles a los agentes externos. Son parásitos humanos estrictos que comprenden las especies patógenas *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*.

2. Especies poco exigentes, que se cultivan en medios comunes a 35 °C e incluso a 22 °C y son poco sensibles a los agentes externos, como *N. sicca, N. mucosa, N. subflava, N. flavescens* y *N. lactamica*. Son especies comensales que forman parte de la flora normal de las vías respiratorias superiores y ocasionalmente pueden intervenir en procesos patógenos. Se incluye el subgénero *Branhamella*, con su especie *B. catarrhalis*, que se diferencia del género *Neisseria* por su distinta composición en bases G + C, porque no ataca los azúcares y reduce los nitratos a nitritos. Las especies del género *Neisseria* y *B. catarrhalis* se diferencian por la oxidación de los azúcares y otros caracteres (tabla 30-2).

Las especies patógenas (meningococo y gonococo) son muy exigentes y para iniciar su desarrollo precisan medios ricos, con humedad relativa elevada y atmósfera del 5-10 % de CO_2. Para evitar la acción inhibidora de los ácidos grasos libres contenidos en el medio (peptonas, agar) se deben añadir sustancias protectoras (suero, albúminas, almidón). En estas condiciones se desarrollan dentro de estrechos límites de temperatura (35-37 °C) y de pH (7,2-7,6).

Son muy sensibles a la acción de los agentes externos (desecación, temperaturas, antisépticos y desinfectantes). Las colonias con el tiempo sufren un proceso de autólisis que se puede evitar por la adición de cationes divalentes (Ca^{++} y Mg^{++}).

Tabla 30-1. Familia Neisseriaceae. Algunas características diferenciales

		Moraxella			
	Neisseria	*Moraxella*	*Branhamella*	*Acinetobacter*	*Kingella*
Cocos	+	–	+	–	–
Bacilos	–*	+	–	+	+
Oxidasa	+	+	+	–	+*
Catalasa	+	+	+	+	–
Reducción de nitritos	+	–	[+]	–	+
Acido de la glucosa	[+]	–	–	d	+
Sensibilidad a la penicilina	+	+	+	–	+
ADN, G + C mol %	46,5-53,5	40-47,5	40-47,5	38-47	47-55

*Algunas excepciones.

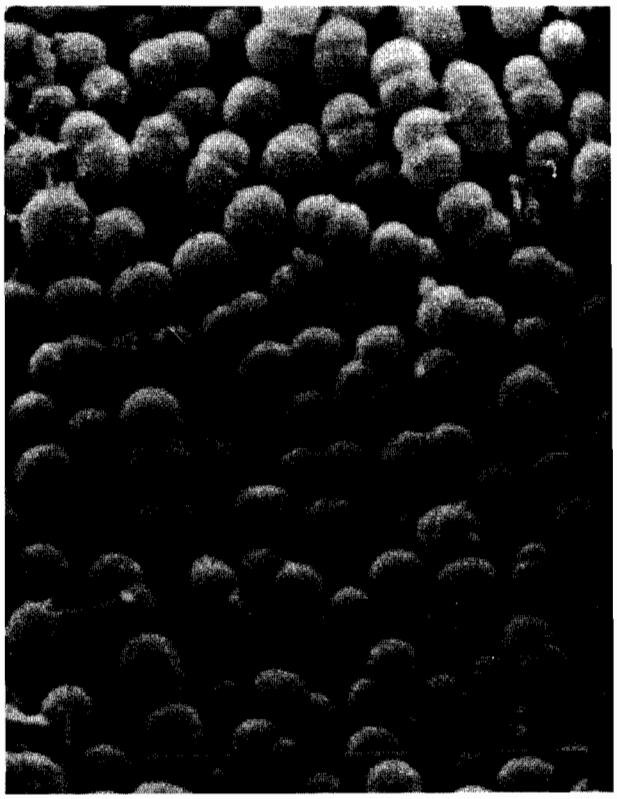


Fig. 30-1. Cultivo de *N. gonorrhoeae*. Microscopia electrónica (× 10.000).

NEISSERIA MENINGITIDIS (MENINGOCOCO)

Concepto

Es un diplococo gramnegativo, perteneciente al género *Neisseria* (oxidasa y catalasa-positivo), caracterizado por ser de difícil cultivo y muy sensible a los agentes externos, y descomponer la glucosa y la maltosa por oxidación. Es un parásito de la mucosa de las vías respiratorias superiores, que puede producir procesos patógenos diversos y es el responsable de la meningitis cerebroespinal epidémica. Hay que tener en cuenta que en la mucosa respiratoria se encuentran otros diplococos gramnegativos comensales, con los cuales se puede confundir, especialmente *N. lactamica*, especie poco patógena que coloniza a menudo la faringe de los niños y que sólo se diferencia por fermentar la lactosa.

Estructura antigénica

Hay que señalar la presencia de antígenos y factores de virulencia en la cápsula, membrana externa y fimbrias.

Polisacárido capsular

Es un poliósido que se ha estudiado desde el punto de vista químico y serológico (tabla 30-3) y ha permitido dividir los meningococos en 8 serogrupos: A, B, C, X, Y, Z, Z' (29E) y W-135. Los meningococos aislados de enfermos o portadores pueden clasificarse por reacciones de aglutinación con sueros grupoespecíficos absorbidos, en algunos de estos grupos. Cierto número de cepas que no pueden clasificarse en los grupos anteriores, constituyen los meningococos no agrupables. La mayoría de cepas de *N. lactamica* son autoaglutinables o no agrupables y sólo un número reducido puede incluirse en los grupos B, C, Y, Z y Z'. El polisacárido capsular del grupo B es semejante al antígeno K1 de *E. coli*. El grupo C se subdivide en C^+ y C^- según que el polisacarido esté o no O-acetilado.

Proteínas de la membrana externa (STA o «serotype antigen»)

Se han demostrado 5 clases de proteínas mayores, que se pueden presentar todas o algunas y en diferente proporción, lo que ha permitido dividir los meningococos en cerca de 20 serotipos. Los serogrupos B, C, Y y W-135 comparten los mismos serotipos, pero no el grupo A. Las clases 2 y 3 se consideran porinas, al igual que la proteína I del gonococo; la clase 5 sería análoga a la proteína II y probablemente intervendría en la adherencia.

Tabla 30-2. Neisseria y Branhamella: caracteres diferenciales de las especies de Neisseria y B. catarrhalis

	Crecimiento en		Colonias		Producción de ácido				
	Agar común a 35 °C	Medio TM*	Morfología	Pigmento	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Reducción de nitratos
N. gonorrhoeae	–	+	Lisas (4 tipos en subcultivos)	Blancogrisáceas	+	–	–	–	–
N. meningitidis	–	+	Lisas, transparentes, a veces mucoides	Blancogrisáceas o no pigmentadas	+	+	–	–	–
N. lactamica	+	+	Lisas, transparentes	Amarillentas	+	+	–	+	–
N. sicca	+	–	Secas, adherentes	No pigmentadas	+	+	+	–	–
N. mucosa	+	–	Mucoides	A veces, amarillentas	+	+	+	–	+
N. subflava	V	–	Lisas, transparentes	Amarilloverdosas	+	+	V	–	–
N. flavescens	+	–	Lisas, opacas	Amarillas	–	–	–	–	–
B. catarrhalis	+	–	Lisas, opacas	No pigmentadas	–	–	–	–	+

*Medio de Thayer-Martin.
V: Variable.

Tabla 30-3. N. meningitidis. Composición del polisacárido capsular

Serogrupos	Composición
A	Fosfato de N-acetil-3-0-acetilmanosamina (α 1-6)
B	Acido N-acetilneuramínico (α 2-8)
C^+	Acido N-acetil-y-0-acetilneuramínico (α 2-9)
C^-	Acido N-acetilneuramínico (α 2-9)
D	No se conoce
X	Fosfato de N-acetilglucosamina (α 1-4), glucosa (α 2-6)
Y	Acido N-acetilneuramínico, glucosa (α 2-6)
Z	No se conoce
Z'(29 E)	Acido 3-deoxi-D-mannooctulosónico N-acetilgalactosamina (β 2-3)
W 135	Acido N-acetilneuramínico (α 1-4), galactosa (α 2-6)

Lipopolisacárido (antígeno LPS)

Es termoestable y se identifica con la endotoxina. Se ha demostrado una cierta variabilidad en la composición del polisacárido que se ha utilizado para la clasificación serológica.

Fimbrias

Se observan en las cepas recién aisladas y están relacionadas con su capacidad de adherencia a las células del epitelio rinofaríngeo.

Proteasas IgA1

Las cepas patógenas pueden producir dos tipos de proteasas, que descomponen las IgA1 en diferentes puntos del segmento bisagra.

Los meningococos se clasifican en serogrupos atendiendo al polisacárido capsular y en serotipos según las proteínas mayores de la membrana externa o los lipopolisacáridos.

Acción patógena

Los meningococos de los grupos A, B y C son los más patógenos y los que se aíslan con más frecuencia a partir de casos de enfermedad meningocócica. El grupo A es más frecuente en Africa, el B, en Europa Occidental y el B y C, en Estados Unidos. Los grupos A y C producen con frecuencia brotes epidémicos, mientras que el B es un meningococo endémico, aunque las tasas de morbilidad pueden variar ampliamente según los países o zonas (4-400 × 100.000 habitantes).

Los meningococos de los restantes grupos y los no agrupables se aíslan menos veces de casos de enfermedad y se encuentran con mayor frecuencia en portadores. Sin embargo, se ha observado un aumento de casos de meningococos de los grupos Y y W-135.

En relación con los serotipos se ha podido comprobar que algunos se aíslan con más frecuencia a partir de enfermos (1, 2, 8 y 9), mientras que otros, a partir de portadores (6, 14). Además, parece ser importante la combinación del serotipo con el serogrupo; el serotipo 2 combinado con el serogrupo B es muy patógeno y se encuentra en el 50 % de meningitis producidas por el grupo B, y el serotipo 2 combinado con el serogrupo C se encuentra en el 70 % de casos producidos por el grupo C, mientras que la combinación del serotipo 2 con el serogrupo Y es poco patógena y produce enfermedades con escasa frecuencia.

Los antígenos responsables de la virulencia estarían asociados con las fimbrias, cápsula y membrana externa. Las fimbrias y algunas proteínas de la membrana externa facilitarían la fijación en las células de la mucosa y la colonización del tracto respiratorio; la cápsula y probablemente otras proteínas estarían relacionadas con la capacidad de invasión por su resistencia a la acción bactericida del suero y propiedades antifagocitarias. Si se observan por microscopia electrónica los meningococos en el curso de su desarrollo, se advierte la formación de vesículas en la membrana externa que se liberan en el medio. Contienen proteínas y endotoxinas responsables de su acción tóxica, que por acción directa o más probablemente a través del fenómeno de Shwartzman serían responsables de las lesiones petequiales y purpúricas que se observan en las septicemias y podrían llegar a producir extensas alteraciones vasculares. Se considera esta enfermedad como el prototipo de las que producen el shock endotóxico y la coagulación intravascular diseminada.

Los meningococos, además, pueden sufrir variaciones fenotípicas. Se ha observado que los aislados de la sangre y del LCR se desarrollan formando colonias transparentes, presentan una menor capacidad de adherencia y son más resistentes a la acción bactericida del suero normal, debido probablemente a la presencia de factores de virulencia (polisacáridos, proteínas) que recubrirían las adhesinas de la membrana externa. Por el contrario, los meningococos aislados de portadores son más adherentes y se desarrollan formando colonias opacas. Son variaciones que les permiten adaptarse y sobrevivir en diferentes condiciones ambientales. La patogenia de la infección sería semejante a la producida por el gonococo (pág. 365).

Cuadros clínicos

La enfermedad meningocócica afecta con preferencia a niños y adultos jóvenes, y dentro de las enfermedades infecciosas constituye una de las causas más importantes de mortalidad. Aproximadamente el 50 % ocurre en el grupo de 6 meses a 5 años, con un máximo en los menores de 1 año, y el 40 %, en el grupo de 6 a 25 años. Se pueden presentar los siguientes cuadros clínicos:

Rinofaringitis. Es el cuadro más frecuente, que puede ir acompañado de escasa sintomatología o ser inaparente. Por lo general no se diagnostica, pero es muy contagioso y puede ser el origen de brotes epidémicos. Por ello, la mayoría de adultos presentan anticuerpos protectores en su suero (60-80 % de la población). Se ha demostrado que el meningococo también puede producir casos de bronquitis y traqueobronquitis, y debe considerarse un agente causal de infecciones respiratorias en la infancia.

Sepsis meningocócica. A partir de la faringe el microorganismo puede pasar a la sangre, producir microfocos de in-

fección en la piel y dar lugar a un cuadro severo de sepsis, con fiebre, cefalalgia, artralgias y una erupción petequial o purpúrica en las muñecas y piernas de aspecto característico, que aparece en las primeras 24 horas (fig. 30-2). El shock endotóxico y la coagulación intravascular diseminada son las complicaciones más graves. A veces presenta un curso fulminante (síndrome de Waterhouse-Friederichsen) con colapso vascular por hemorragias masivas y bilaterales de las glándulas suprarrenales. También puede adoptar una forma crónica con artritis y ligero rash petequial.

Meningitis purulenta. Se presenta de forma esporádica en la población civil, generalmente en niños en el medio familiar o escolar, y en forma epidémica en el medio militar. El comienzo es brusco con fiebre, cefalalgia intensa, vómitos y rigidez de nuca. La presencia de un rash petequial es un signo de gravedad y puede llegar al coma en pocas horas. Con los antibióticos, la mortalidad se ha reducido, pero no ha desaparecido.

Otros cuadros. Ocasionalmente el meningococo puede producir *otitis, artritis, conjuntivitis purulenta* y *neumonía*, y excepcionalmente se ha aislado de casos de infección del aparato urogenital.

Epidemiología

La fuente de infección está constituida por los enfermos no tratados, en especial por los casos de faringitis que son los más numerosos y muchas veces pasan inadvertidos y sobre todo por las infecciones inaparentes y los *portadores sanos*. La gran mayoría son portadores nasofaríngeos, que se encuentran en el 5-20 % de la población, especialmente entre los adolescentes y adultos jóvenes. Hay que tener en cuenta que ocasionalmente se han aislado meningococos del ano y uretra en el hombre y de la vagina y cuello del útero en la mujer. *N. lactamica* por lo general coloniza la faringe de los niños de 3 meses a 6 años de edad.

Al ser el meningococo un parásito exclusivo del hombre y muy sensible a los agentes externos, se comprende que el contagio sea siempre directo. Se produce por vía aérea (gotitas de Pflüge) o por objetos recientemente contaminados.

El contagio no es sinónimo de enfermedad. El porqué en unos casos la infección se traduce por una simple faringitis y en otros se produce una meningitis o una sepsis no se conoce con certeza, pero es probable que intervengan diversos factores: *a)* presencia de meningococos virulentos, *b)* ausencia de anticuerpos protectores y c) existencia de factores predisponentes, como humedad, enfriamiento, fatiga e infecciones respiratorias. A este respecto las virosis respiratorias contribuyen por un doble mecanismo, facilitando la diseminación del microorganismo por el catarro que producen (infecciones inaparentes) y disminuyendo los mecanismos defensivos de la mucosa.

En consecuencia, la enfermedad se produce en las infecciones recientes cuando intervienen estos factores, pues al cabo de pocos días aparece una respuesta inmune que protege de la enfermedad, pero no evita el estado de portador. Se presenta en invierno y primavera, y es endémica en las grandes ciudades; aparecen brotes epidémicos caracterizados por su comienzo lento e insidioso en forma de casos aislados, en grupos de susceptibles (familias, escuelas, internados, campamentos), y se propaga «a saltos», debido a que la cadena de infección está constituida por portadores, formas inaparentes y faringitis, y son raros los casos de meningitis. Los casos nuevos a partir de enfermos (casos secundarios) son muy raros, y se ha observado sólo la existencia de un mayor riesgo en los contactos familiares no sometidos a profilaxis (3,8 %). Fuera del medio familiar, el riesgo es incierto.

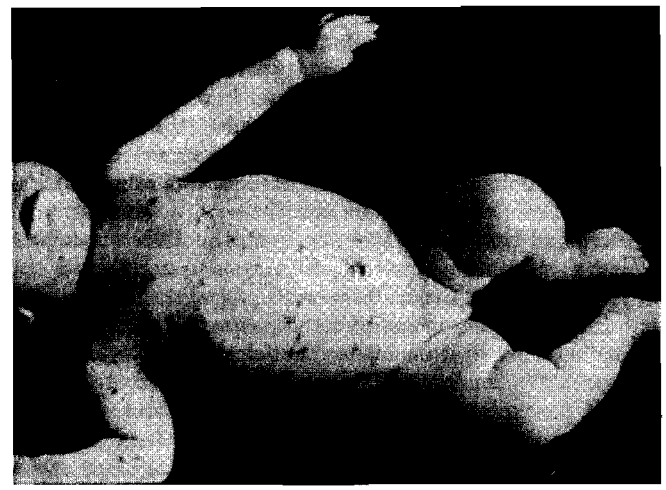


Fig. 30-2. Sepsis meningocócica. Típico exantema petequial. (Por cortesía de M. Cruz Hernández, Departamento de Pediatría, Hospital Clínico y Provincial, Barcelona.)

En época epidémica, el número de portadores aumenta por los meningococos prevalentes en el brote y por cepas de serogrupos diversos, que a su vez inducen la aparición de anticuerpos bactericidas frente a las cepas virulentas, de manera que, cuando el número de portadores es muy elevado, se reduce la incidencia de la enfermedad.

Las demás especies de *Neisseria (N. lactamica, N. sicca, N. mucosa, N. subflava* y *N. flavescens)* y *B. catarrhalis* pueden producir ocasionalmente cuadros de meningitis, sepsis, endocarditis y neumonía. *N. lactamica* se ha aislado, además, en infecciones del tracto respiratorio.

Inmunidad

Se encuentra asociada con la presencia de anticuerpos en el suero: *a)* anticuerpos locales (IgA), que impedirían la fijación del meningococo en las células del epitelio respiratorio y, por tanto, la colonización de la mucosa, y *b)* anticuerpos séricos (IgG), que actuarían por dos mecanismos, por acción opsónica facilitando la fagocitosis del meningococo y sobre todo por acción bactericida, previa fijación del complemento. Estos anticuerpos pueden ser inducidos por el polisacárido capsular o los antígenos proteicos de la pared celular.

En relación con los *antígenos capsulares* se ha demostrado que los polisacáridos de los grupos A y C se comportan como buenos antígenos induciendo la formación de anticuerpos bactericidas, responsables de la inmunidad adquirida, que es siempre grupoespecífica. Por el contrario, los anticuerpos frente al polisacárido B presentan acción protectora sólo frente a algunas cepas del grupo B, lo que sugiere que el polisacárido es menos inmunógeno o induce anticuerpos con poca acción protectora no relacionados con la inmunidad.

Se ha estudiado el grado de inmunización espontánea de la población frente al polisacárido del grupo A en un grupo de niños (1-5 años) de alto riesgo y se ha observado la presencia de anticuerpos bactericidas en la mayoría de recién nacidos, que persisten hasta el 3.er mes. A partir de esta edad no se detectan anticuerpos hasta los 8 meses, momento en que vuelven a aparecer, de manera que la proporción de sueros con anticuerpos va aumentando progresivamente con la edad hasta los 5 años, en que el 97 % de niños presentan niveles protectores de anticuerpos bactericidas.

Por otra parte, se ha observado que, en las infecciones naturales por meningococos pertenecientes a un serogrupo, se podían demostrar en el suero anticuerpos bactericidas no sólo para el mismo grupo, sino, además, frente a otros serogrupos. La explicación de estas divergencias se encuentran posiblemente en los anticuerpos producidos frente al *antígeno proteico* de la membrana externa, ya que la infección por una cepa de meningococos da lugar a anticuerpos frente al polisacárido capsular y a la proteína de la membrana externa. Mientras que la inmunidad en los primeros, por ser grupoespecífica, afectaría a todos los meningococos del mismo serogrupo, los segundos por su tipoespecificidad la extenderían a todos los meningococos del mismo serotipo, que, por pertenecer a diferentes serogrupos, explicaría la inmunidad de amplia cobertura que se presenta.

Estos fenómenos también se han observado con los meningococos menos patógenos, pues en el suero de portadores de meningococos no agrupables se han demostrado anticuerpos frente al meningococo causal y en proporción variable también frente a meningococos de los grupos patógenos (A, B, C e Y). De la misma manera, los portadores nasofaríngeos de *N. lactamica* inducen la aparición de anticuerpos protectores frente a los serogrupos patógenos, al existir reacciones serológicas cruzadas. Estos datos indican que la colonización de la población por meningococos pertenecientes a los grupos más patógenos y menos patógenos e incluso por *N. lactamica, E. coli* y otras bacterias que tienen antígenos relacionados contribuye a crear una inmunización natural de base, frente a la mayoría de meningococos de los grupos patógenos.

Diagnóstico bacteriológico

Toma de muestras

Las muestras (LCR, sangre, petequias, exudado faríngeo) deben obtenerse antes de la administración de sulfamidas o antibióticos, transportarse y examinarse rápidamente, dada la fragilidad del microorganismo. Pueden conservarse unas horas a 37 °C al abrigo de la desecación, pero nunca en la nevera. Cuando se demora su envío al laboratorio, debe utilizarse un medio de transporte adecuado (medio de Moffet-Young y Stewart con tioglicolato, el sistema Transgrow o Jembec con medio de Thayer-Martin modificado).

Examen directo y cultivo

En los casos de *meningitis*, por punción lumbar se obtiene un líquido hipertenso, turbio y a veces purulento, que acostumbra dividirse en dos partes. La primera se centrifuga, y se utiliza el sedimento para efectuar un frotis, que, teñido por el método de Gram, revelará la presencia de gran número de leucocitos polinucleares, con escasos diplococos gramnegativos extra o intracelulares. Con el sobrenadante se pueden practicar las reacciones de determinación de albúminas y globulinas, que son positivas, y la glucorraquia, que es inferior a la normal. También en el sobrenadante puede demostrarse la presencia del polisacárido capsular por reacciones de inmunodifusión o contrainmunoelectroforesis. Con la segunda muestra se practican siembras en placas de agar-sangre y agar-chocolate (agar-sangre calentado) o en medio de Mueller-Hinton, previamente calentadas a 37 °C, que se incuban a 36 °C en cámara húmeda con un 10 % de CO_2. Se puede obtener un mayor número de aislamientos sembrando directamente las placas en la cabecera del enfermo.

En los casos de *sepsis* se practica un hemocultivo. También se pueden efectuar frotis y cultivos a partir del aspirado de los elementos petequiales.

En los casos de *faringitis* o en *portadores* se toma el exudado retronasal con el hisopo acodado de West, que se siembra en el medio selectivo de Thayer-Martin con adición de antibióticos (vancomicina, colistina, nistatina y trimetoprim) que inhiben el desarrollo de la flora asociada, pero que permiten el desarrollo de *N. lactamica*.

En agar-sangre se desarrollan colonias lisas y transparentes, a veces mucoides, de 1-2 mm de diámetro, no hemolíticas, que dan la reacción de la catalasa y de las oxidasas (diagnóstico de género), pues, al añadir a la placa una solución de tetrametilparafenilendiamina o tomar una colonia con el asa de cultivo y depositarla en papel de filtro impregnado del reactivo, éste adquiere un color negro púrpura característico, que sólo presentan las *Neisseria* y algunas bacterias grampositivas. *N. meningitidis*, además, no se desarrolla en medios comunes (especies exigentes), descompone la glucosa y maltosa por oxidación, no fermenta la lactosa (ONPG-) y no reduce los nitratos. El diagnóstico de especie y la clasificación en serogrupos pueden efectuarse rápidamente por aglutinación en porta con los sueros grupoespecíficos correspondientes, y también por coaglutinación o inmunofluorescencia.

Las *Neisseria* comensales se desarrollan en medios comunes y se diferencian por su acción sobre los azúcares y otras características (tabla 30-2). Hay que tener en cuenta que *N. lactamica* presenta las mismas propiedades que el meningococo, con la única diferencia que descompone la lactosa por vía fermentativa.

En los enfermos tratados puede demostrarse la presencia de meningococos inactivados en el LCR y otros líquidos orgánicos, por inmunofluorescencia directa con sueros absorbidos, y del polisacárido capsular soluble de los grupos A, C, Y y W-135 por contrainmunoelectroforesis, coaglutinación o ELISA.

Tratamiento

Son fundamentales el diagnóstico y tratamiento precoz del enfermo. El meningococo es sensible a diversos antibióticos, y los que atraviesan mejor la barrera hematoencefálica en condiciones normales son las sulfamidas y el cloranfenicol. Sin embargo, las sulfamidas no deben administrarse por el elevado porcentaje de cepas resistentes y el

cloranfenicol, por su acción tóxica, se reserva para los casos de hipersensibilidad a la penicilina.

Los antibióticos de elección son la penicilina y la ampicilina, pues, además de ser muy activas, pueden atravesar la barrera cuando está inflamada.

El tratamiento debe ser precoz, administrado a dosis elevadas y por vía intravenosa, y también asociarse a la terapéutica del shock.

Profilaxis

Se basa en la reducción del número de portadores y en la protección de la población susceptible por medidas que eviten el hacinamiento y los contactos o mediante quimioprofilaxis. El diagnóstico y tratamiento de los portadores y las medidas de quimioprofilaxis masiva de grupos de población susceptible, en un intento de reducir el número de portadores y evitar la transmisión, no han dado buenos resultados y, como contrapartida, han producido resistencias y acciones secundarias. En una primera época se practicó una quimioprofilaxis de corta duración con sulfadiacina (4 días), que demostró su eficacia durante un corto período de tiempo. La aparición de cepas resistentes (grupos B y C) determinó su sustitución por antibióticos, y se ha comprobado que la penicilina, ampicilina, tetraciclinas y eritromicina son poco eficaces en el tratamiento de los portadores, porque el antibiótico no se elimina por la saliva. Por esto, se ha aconsejado el empleo de rifampicina (600 mg diarios durante 4 días), que reduce el 80-90 % de portadores, pero induce resistencias.

En la actualidad se aconseja limitar la quimioprofilaxis a los contactos familiares de los enfermos, por existir mayor riesgo.

Vacuna antimeningocócica. Se ha demostrado que los polisacáridos se comportan como buenos antígenos induciendo la aparición de anticuerpos bactericidas responsables de la inmunidad, que es grupoespecífica.

Como el polisacárido del grupo B es poco inmunógeno, solamente han podido prepararse vacunas con los polisacáridos purificados de los serogrupos A y C y una vacuna combinada A + C.

La vacuna del grupo A se ha empleado en diversos países y ha demostrado su eficacia en la prevención de la meningitis epidémica y endémica en la población de elevado riesgo, administrando a los niños mayores de 18 meses y adultos 1 dosis de 50 μg por vía subcutánea y 2 dosis a los niños de 6 a 18 meses, separadas por 3 meses de intervalo. En los niños pequeños produce una respuesta menos eficaz, especialmente frente al polisacárido C. También está indicada como medida complementaria de la quimioprofilaxis ya que la vacunación precoz de los contactos es importante, pues los casos secundarios se presentan en su mayoría a los 5-12 días, con tiempo suficiente para que se puedan notar los efectos beneficiosos de la vacunación.

Queda por resolver el problema del escaso poder inmunógeno de la vacuna C en los menores de 18 meses y la preparación de una vacuna B eficaz. Se están efectuando ensayos para preparar una vacuna con las proteínas de la membrana externa, especialmente con el serotipo 2, solo o combinado con el polisacárido B; al ser este antígeno compartido por la mayoría de cepas de los grupos B y C, permitiría obtener una vacuna de amplia cobertura antigénica.

BIBLIOGRAFIA

Burian, V.; Gotschlich, E.; Kwzemenska, P., y Svandova, E.: Naturally occurring antibodies to *Neisseria meningitidis*. Bull. WHO, 55 (6), 653-657, 1977.

Dirks-Go, S. I. S., y Zanen, H. C.: Latex agglutination, counterimmunoelectrophoresis and protein A co-agglutination in diagnosis of bacterial meningitis. J. Clin. Pathol., 31, 1167-1171, 1978.

Frasch, C. E.: Noncapsular Surface Antigens of *Neisseria meningitidis*. En Weinstein, L., y Fields, B. N. (dirs.): Seminars in Infectious Disease, vol. II, 304-337, 1979.

Golk, R.; Goldchneider, I.; Lepow, M. L.; Draper, T. F., y Randolph, M.: Carriage of *N. meningitidis* and *N. lactamica* in infants and children. J. Infect. Dis., 137, 112-121, 1978.

Kasper, D. L.; Winkelhake, J. L.; Brandt, B. L., y Artenstein, M. S.: Antigenic Specificity of Bactericidal Antibodies in Antisera to *N. meningitidis*. J. Infect. Dis., 127, 378-387, 1973.

Reller, L. B.; MacGregor, R. R., y Beaty, H. N.: Bactericidal antibody after colonization with *Neisseria meningitidis*. J. Infect. Dis., 127, 56-59, 1973.

Sivonen, A.; Renkonen, O. V.; Weckstrom, P.; Koskenvoo, K.; Raunio, V., y Makela, P. H.: The effect of Chemoprophylactic Use of Rifampin and Minocycline on rates of carriage of *N. meningitidis* in Army Recruits in Finland. J. Infect. Dis., 137, 238-244, 1978.

Capítulo 31

Neisseria gonorrhoeae (gonococo)

Agustín Pumarola

CONCEPTO

Es un diplococo gramnegativo, aerobio *(Neisseria)*, de difícil cultivo y muy sensible a los agentes externos, que se caracteriza por descomponer la glucosa por oxidación. Produce infecciones localizadas en las mucosas con preferencia en el aparato urogenital, en su mayoría de transmisión sexual, y la blenorragia es la infección más frecuente.

La importancia de las infecciones gonocócicas deriva de que, a partir de 1960, su frecuencia ha aumentado extraordinariamente en todo el mundo y paralelamente se ha observado una disminución progresiva de la sensibilidad del gonococo a la penicilina.

ACCION PATOGENA

Estructura antigénica y factores de virulencia

Se ha demostrado la existencia de diversos antígenos y factores de virulencia localizados en las fimbrias y en la pared celular, especialmente en la membrana externa:

Fimbrias

Las cepas de gonococos aisladas de los enfermos presentan fimbrias que están directamente relacionadas con la virulencia. Intervienen en la adherencia a las células epiteliales y dificultan la fagocitosis por los leucocitos polinucleares. Son de naturaleza proteica y composición heterogénea; existiría una fracción común, probablemente portadora de la adhesina y una fracción variable que permitiría su clasificación en más de 50 serotipos.

Se ha observado que una misma cepa es capaz de presentar más de un tipo de fimbrias y que estas variaciones también ocurren *in vivo* cuando la misma cepa se aísla de diferentes localizaciones de un paciente.

Proteínas de la membrana externa

Se han demostrado 3 proteínas mayores. La proteína I es tipoespecífica y ha permitido clasificar los gonococos en serotipos (16 serotipos según Johnston y cols., 1976, ó 9 serotipos mayores según Buchanan y cols., 1981). Estudios experimentales sugieren que se trataría de una porina que sería transferida a la membrana de las células epiteliales y pondría en marcha el proceso de endocitosis. Induce la aparición de anticuerpos bactericidas tipoespecíficos.

La proteína II es una proteína modificable por el calor, responsable de la adherencia firme a la célula epitelial y de la coloración más oscura de las colonias. Su presencia estaría relacionada con la localización del gonococo. La proteína III se encuentra en todos los gonococos, no es modificada por el calor y no sufre variaciones.

En algunas cepas por tinción negativa se observa un halo claro parecido a una *cápsula*, producido por un acúmulo de polifosfatos extracelulares.

Lipopolisacárido

El lípido A se identifica con la endotoxina responsable de la acción tóxica sobre el epitelio. En el polisacárido se ha demostrado la presencia de determinantes antigénicos comunes a todos los gonococos y de determinantes variables que han permitido dividir los gonococos en 6 tipos.

Proteasa IgA1

Los gonococos producen una proteasa que descompone las IgA1 e inactiva los anticuerpos de la mucosa.

En los cultivos se observa la existencia de 4 tipos de colonias de gonococo en relación con la presencia de fimbrias y la virulencia. A partir de los enfermos se desarrollan colonias pequeñas (tipos 1 y 2), constituidas por gonococos que presentan fimbrias; por pases seriados se transforman en colonias mayores y más planas desprovistas de fimbrias (tipos 3 y 4). Por inoculación en voluntarios, los tipos 1 y 2 son virulentos y capaces de producir uretritis, mientras que los tipos 3 y 4 son avirulentos.

En los gonococos fimbriados que se aíslan de los enfermos, el color y opacidad de las colonias varían según la localización, en relación con la presencia de la proteína II. Los gonococos aislados de la uretra forman colonias oscuras y opacas, mientras que, a partir de la sangre, son más claras y transparentes; en los aislados del cuello del útero se observa una variación fenotípica según el ciclo menstrual,

pues se desarrollan colonias más oscuras a partir de gonococos aislados durante la ovulación y transparentes durante la menstruación.

Por crecimiento de los gonococos en medios químicamente definidos han podido conocerse las necesidades en determinados factores de crecimiento y sobre esta base dividir los gonococos en auxotipos. Son caracteres estables que se utilizan como marcadores en estudios sobre la virulencia, capacidad invasiva y sensibilidad a los antibióticos. Se ha observado que algunas cepas precisan para su desarrollo la presencia de arginina, hipoxantina y uracilo (cepas AHU o Arg^-, Hyx^- y Ura^-) y que estas cepas son por lo general muy sensibles a la penicilina, resistentes a la acción bactericida del suero normal y responsables de la mayoría de infecciones generalizadas.

PATOGENIA Y CUADROS CLINICOS

El gonococo puede colonizar las mucosas que presentan epitelio columnar o de transición, como la uretra, cuello del útero, ano, faringe y conjuntiva. La puerta de entrada por lo general es la mucosa del tracto urogenital. A las pocas horas del contagio aparecen los gonococos adheridos a la superficie de la mucosa, lo que viene facilitado por la presencia de fimbrias y la superficie vellosa de la célula. Por estudios en cultivo de órganos (trompas de Falopio) se ha podido conocer el mecanismo de adherencia y de penetración. La adherencia a las células epiteliales se produce en dos fases. En la primera intervienen las fimbrias que se fijan en los receptores de las células del epitelio columnar secretor de moco, produciendo una adherencia a distancia que evita la fagocitosis por los leucocitos polinucleares. A continuación, el gonococo contacta con el epitelio y se produce una adherencia más amplia y firme mediada por las proteínas de la membrana externa. El contacto produce una señal que pondría en marcha el proceso de endocitosis, que se inicia por la invaginación de la membrana de la célula y la formación de una vesícula fagocítica o fagosoma, que transporta el gonococo a la zona basal de la célula donde se libera por evaginación en la lámina propia. Durante este período, el gonococo no sufre alteraciones debido a que las células epiteliales no contienen una dotación suficiente de lisosomas. La invasión de la mucosa supone la repetición de este proceso.

Los gonococos se multiplican en los tejidos subepiteliales, donde se produce su autólisis con liberación de endotoxinas responsables de la acción tóxica y la pérdida de las células ciliadas del epitelio, que es la causa del proceso supurado inicial típico de la fase aguda; más tarde, en la fase crónica aparece una reacción serofibrinosa que conduce progresivamente a la esclerosis y fibrosis (estenosis uretral o tubárica). La infección gonocócica es una infección localizada en la puerta de entrada (uretra, recto, cuello del útero, faringe y conjuntiva). A partir del foco inicial, el gonococo puede propagarse por contigüidad a lo largo del tracto urogenital y por vía sanguínea a distancia, en especial en las articulaciones y la piel. La invasión de la sangre se produce en pocos casos (1 %), sobre todo cuando los gonococos en los tejidos subepiteliales son resistentes a la acción bactericida del suero. Estas cepas por lo general producen colonias transparentes y pertenecen a un serotipo (proteína I) y auxotipo (cepas AHU) determinado.

La uretritis gonocócica o blenorragia es la infección más frecuente (fig. 31-1). Tiene un período de incubación de 2 a 6 días, durante el cual el gonococo se multiplica en la mucosa y afecta, además, las glándulas de Littré en el hombre y de Skene y Bartholin en la mujer, en los tejidos subepiteliales. En el hombre se presenta una uretritis aguda localizada en la uretra anterior, de curso muy típico, caracterizada por secreción purulenta y dolor a la micción, con un 10 % de casos inaparentes. En la mujer, la infección se localiza generalmente en el cuello del útero (endocérvix) y sólo en el 10 % de casos se observa la sintomatología típica cuando va acompañada de vaginitis y uretritis; el 50 % son formas atípicas (sensación de pesadez pelviana, flujo, trastornos urinarios o menstruales) y el 40 %, formas inaparentes. Cultivos de rutina del cuello del útero en mujeres jóvenes embarazadas demuestran la presencia de gonococos en el 1-5 % según el grupo estudiado. Parece debido a que, en el cuello del útero después de la fijación, se produce un fenómeno de recubrimiento del gonococo por el epitelio escamoso estratificado (endocitosis epitelial), que lo protege de la fagocitosis, fenómeno que no se produce en el epitelio columnar secretor de moco. La afectación del recto (anorrectitis) es variable y en la mujer se produce por contigüidad en el 30 % de casos y en el 10 % como única localización; en el hombre se infecta casi exclusivamente en los homosexuales. Mientras que en el hombre la blenorragia se manifiesta y el enfermo acude al médico, en la mujer por la inespecificidad de los síntomas sólo se sospecha cuando se presentan complicaciones.

Después de esta fase inicial y en ausencia de tratamiento, sobreviene una fase crónica con escasas molestias (secreción mucosa), en la que el gonococo anida en los fondos de saco glandulares, que constituyen el punto de partida de las recaídas y de la progresión de la enfermedad. Por contigüidad se puede afectar en el hombre la uretra posterior, la próstata, el epidídimo y el testículo, y en la mujer las trompas (salpingitis), el ovario y el peritoneo pelviano. En estos casos puede producirse pelviperitonitis, con dolor en el cuadrante inferior del abdomen, piosalpinx o perihepatitis.

El 10-15 % de mujeres con blenorragia presentan pelviperitonitis después de la primera menstruación, que es la causa más frecuente de esterilidad en la mujer (15 % después del primer ataque y 75 % después de tres o más ataques).

Por vía hemática se puede producir bacteriemia (infección gonocócica diseminada), con localización en las articu-

Fig. 31-1. Uretritis gonocócica.

laciones (manos, pies, codo, rodilla), que es una de las causas más frecuentes de artritis o tenosinovitis purulenta en adultos jóvenes o en el endocardio (endocarditis). En otros casos puede producir simplemente fiebre y artralgias (reumatismo gonocócico) o dar lugar a sepsis con exantema pustular en las extremidades, de curso muy grave, que puede asociarse con artritis. Ocurre con mayor frecuencia en el sexo femenino, probablemente por la mayor facilidad de diseminación durante la menstruación y embarazo.

En el recién nacido se puede presentar la *conjuntivitis gonocócica u ophtalmia neonatorum* (fig. 31-2), por contagio durante el parto; es una infección aguda purulenta que conduce a la ceguera total, si no se trata rápidamente. En las niñas se puede producir una vulvovaginitis por contacto con materiales recientemente contaminados, como consecuencia de que la mucosa vaginal de la niña, a diferencia de la propia de la mujer adulta, no está revestida por epitelio córneo.

La importancia social de la blenorragia es extraordinaria, pues es una de las causas de ceguera en el recién nacido y menos veces en la edad adulta. En el hombre produce estenosis uretrales y en la mujer, salpingitis y pelviperitonitis, que son una de las causas de esterilidad. (También lo es la epididimitis del varón, pero es muy poco frecuente como consecuencia de lo típico de la blenorragia y la facilidad del tratamiento.)

Hay que tener en cuenta que alrededor de una tercera parte de uretritis, especialmente de uretritis crónicas, no son producidas por el gonococo, y pueden intervenir microorganismos diversos. En el hombre pueden observarse *Chlamydia trachomatis* (40 %) y *Ureaplasma urealyticum* mientras que, en la mujer, clamidias y herpesvirus pueden producir cervicitis, y *Trichomonas vaginalis, Candida albicans* y *Gardnerella vaginalis* pueden encontrarse en las secreciones vaginales.

La pelviperitonitis aunque en el 50 % de los casos es producida por el gonococo, en ocasiones pueden intervenir otras bacterias, en especial cocos grampositivos anaerobios o *Bacteroides fragilis*, infecciones que muchas veces se encuentran asociadas con la presencia de dispositivos intrauterinos.

Las uretritis no gonocócicas se caracterizan por un período de incubación más prolongado, por una secreción más mucosa y porque en su gran mayoría son resistentes a la penicilina y antibióticos que se emplean en el tratamiento de la blenorragia, lo que crea cierto confusionismo. De ahí la importancia del laboratorio en el diagnóstico etiológico de las uretritis.

Fig. 31-2. *Ophtalmia neonatorum.*

Inmunidad

Como consecuencia de la infección puede demostrarse la presencia de anticuerpos bactericidas, locales (IgA) y séricos (IgG, A y M), sobre todo cuando la infección presenta cierta duración o gravedad, y que protegen de las infecciones ascendentes y reinfecciones frente a la cepa homóloga. La heterogeneidad antigénica de los gonococos explica la posibilidad de infecciones repetidas a partir de pacientes infectados con cepas de distinta composición antigénica, e incluso en ocasiones a partir de un mismo paciente como consecuencia de la variabilidad antigénica de una misma cepa. En las infecciones diseminadas se ha observado en algunos casos la ausencia de respuesta inmune frente al gonococo causal. No se conoce con certeza, pero se considera que puede ser debida a un déficit de poder inmunógeno del gonococo, a un defecto del sistema inmune del huésped o a su resistencia a la acción bactericida del suero.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Se efectúa por la demostración e identificación del gonococo en los productos patológicos y, en algunos casos, por métodos serológicos.

Toma de muestras

Teniendo en cuenta la extraordinaria labilidad del gonococo a la desecación, temperatura y antisépticos, superior a la del meningococo, es importante que no se utilicen antisépticos en la preparación del paciente, que el material y los recipientes no contengan antisépticos residuales, y los hisopos sustancias tóxicas. El producto debe transportarse rápidamente al abrigo de la desecación y de las temperaturas bajas. El ideal es obtener la muestra en el propio laboratorio y, a ser posible, antes de iniciar el tratamiento. En los *casos agudos* se recoge una muestra de la uretra en el hombre (recto en homosexuales) y de la uretra, cuello del útero y recto en la mujer. Cuando la secreción es abundante, basta tomar por la mañana, antes de la primera micción o después de 1 hora de la micción anterior, una pequeña cantidad de pus con un hisopo de alginato o el asa de cultivo. En los *casos crónicos* es importante la recogida y selección de la muestra, que en el hombre estará constituida por la gota matinal, recogida del interior de la uretra con el asa de cultivo, un hisopo fino o el sedimento de la primera orina de la mañana (en una micción corta de 5-10 ml). En la mujer hay que obtener una muestra de la uretra y sobre todo del cuello del útero y de las glándulas de Skene y Bartholin. De la uretra y glándulas de Skene se obtiene la muestra introduciendo el índice, protegiendo el canal vaginal y presionando la uretra contra la sínfisis pubiana. Para la muestra cervical, con la ayuda de un espéculo vaginal, se introduce un hisopo en el orificio del cuello uterino, y para las glándulas de Bartholin se busca una glándula palpable y su orificio excretor en el tercio posterior de la cara interna de

los labios pequeños. Es importante obtener una muestra de secreción del recto (criptas por dentro del esfínter) sobre todo en la mujer, y en los casos de infección gonocócica diseminada hay que practicar un hemocultivo y un cultivo del líquido sinovial.

Se debe proceder de inmediato al examen directo de la muestra y a su inoculación en medios de cultivo. Cuando no es posible, se emplea un *medio de transporte*, generalmente el medio de Stuart y Amies, medio semisólido, no nutritivo, reductor y tamponado, que permite conservar la viabilidad de 6 a 12 horas. Es mejor utilizar *medios de transporte y crecimiento*, como el medio de Thayer-Martin modificado en una atmósfera de CO_2 para evitar la autólisis del germen, en botellitas cerradas, como los sistemas de Transgrow, Gonogrow (adición de clindamicina) o Jembec en placas de medio con una cavidad central donde se coloca una tableta generadora de CO_2. Estos medios se transportan en bolsas de plástico y, si se incuban antes de su envío, se alarga considerablemente el período de viabilidad.

Examen directo

Es importante en los casos de uretritis aguda en el varón. Se practica una extensión del pus uretral en un porta que se tiñe por el método de Gram. Se observan gran número de leucocitos y diplococos gramnegativos con su típica morfología en grano de café, ya extracelulares formando grupos o la mayoría intracelulares (fig. 31-3) rellenando los leucocitos (leucocitos empedrados). Cuando el pus uretral presenta este aspecto característico y no se observan otros gérmenes, el diagnóstico es prácticamente seguro y no existe necesidad de efectuar cultivos. En la mujer (endocervicitis, uretritis), el examen directo es menos sensible y, a partir de otras muestras (recto, faringe), en general tiene muy poco valor debido a la presencia de abundante flora. Sólo en casos de endocervicitis o proctitis purulentas se observan preparaciones típicas.

Más adelante, la secreción se hace mucosa y disminuye el número de gonococos. Cuando se observan escasos diplococos gramnegativos extracelulares, hay que tener en cuenta que otros gérmenes pueden presentar en los frotis uretrales una morfología semejante al gonococo y producir errores diagnósticos. Esto ocurre con estafilococos, estreptococos y difteroides decolorados, y sobre todo con las especies de *Neisseria* comensales y los componentes del género *Moraxella* y *Acinetobacter*; son pequeños bacilos gramnegativos aerobios no fermentadores, que frecuentemente en los frotis se confunden con gonococos y en los cultivos producen colonias semejantes, que dan la reacción de las oxidasas y son por lo general resistentes a los antibióticos. Estas causas de error desaparecen cuando se procede a la inoculación de la muestra en medios selectivos recientes que inhiben su desarrollo.

Un examen directo negativo no indica la ausencia de gonococos, pues, al ser el método poco sensible, hay que proceder a cultivos.

Cultivos

El medio de elección en los casos agudos es un agar-sangre húmedo o agar-chocolate; en los casos crónicos con abundante flora asociada se utilizan medios selectivos, como el medio de Thayer-Martin modificado. Es un medio enriquecido con factores de crecimiento, a los que se añaden antibióticos para inhibir la flora acompañante (vancomicina, 3 g/ml; colistina, 7,5 g/ml; nistatina, 12,5 g/ml, y lactato de trimetoprim, 5 g/ml), y se aconseja también sembrar una segunda placa en un medio no inhibidor, ya que algunos gonococos muy sensibles pueden no desarrollarse en los medios selectivos. También se emplea el medio NYC con dializado de levadura, plasma y hematíes hemolizados de caballo, con adición de vancomicina, colistina anfotericina y lactato de trimetoprim.

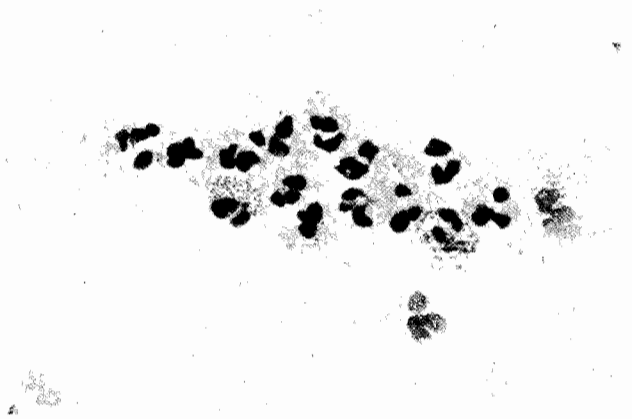


Fig. 31-3. Frotis de pus uretral.

La siembra en placa debe efectuarse, a ser posible, en la cabecera del enfermo con el mismo hisopo o asa utilizados para la toma del producto, lo que facilita su transporte. Las placas deben incubarse rápidamente a 35 °C con un 70 % de humedad y una atmósfera de 3-7 % de CO_2, durante 24-48 horas.

Las colonias de gonococo a las 18 horas presentan 1 mm de diámetro, son opacas, blancogrisáceas, finamente granulosas y brillantes, y a las 48 horas se tornan mucoides. Su búsqueda se facilita por la reacción de las oxidasas.

Una reacción de las oxidasas positiva a partir de colonias de cocos gramnegativos desarrollados en el medio de Thayer-Martin, obtenidos del tracto urogenital, es de fuerte presunción diagnóstica (95 %).

Se puede llegar a la identificación por pruebas bioquímicas mediante el estudio de la acción sobre los azúcares (acidificación de la glucosa), por siembras de colonias en medios de cultivo (medio CTA) o adición de suspensiones densas en medios no nutritivos o discos impregnados de azúcares. Las pruebas de inmunofluorescencia directa con sueros específicos marcados presentan dificultades técnicas y en la actualidad no se recomiendan.

Las pruebas de coaglutinación empleando estafilococos con anticuerpos absorbidos, que, en presencia de una suspensión de los gonococos aislados del enfermo, se combinan produciendo una aglutinación manifiesta, y las de enzimoinmunoensayo (ELISA) son las más sensibles y específicas, de modo que incluso permiten la identificación de los gonococos directamente de las muestras del enfermo.

Cuando no se desarrollan colonias de gonococo, se puede recurrir a métodos de *reactivación de los focos*, tanto en el hombre (masaje prostático y uretral, ingestión durante la

víspera de bebidas alcohólicas) como en la mujer, teniendo en cuenta que existe una reactivación fisiológica durante la menstruación y ha de recogerse el producto al final de ésta.

Con los gonococos aislados se deben practicar pruebas de sensibilidad a la penicilina y de producción de β-lactamasas. Para esto se siembra una placa de agar-chocolate con la cepa problema y se coloca un disco de 10 U de penicilina en la superficie de la placa, que se incuba durante 18-24 horas en condiciones adecuadas. La aparición de un área de inhibición de diámetro de 19 mm o inferior indica que el gonococo es resistente a la penicilina y productor de β-lactamasas. También se puede determinar directamente con métodos cromogénicos, acidimétricos o yodométricos.

Las pruebas serológicas de diagnóstico se emplean sólo en los casos crónicos o en las complicaciones (artritis), cuando no es posible establecer el diagnóstico por examen directo y cultivo. La reacción más utilizada es la RFC, con suspensiones totales polivalentes o fracciones sonicadas, y hay que tener en cuenta que se positiviza a partir de las 2 semanas de la infección hasta 3 meses después de la curación clínica. El diagnóstico se efectúa demostrando un aumento significativo del título de anticuerpos en 2 muestras de suero y también detectando la presencia de anticuerpos o de antígeno en el líquido sinovial. No tiene valor en personas tratadas con vacunas gonocócicas o en enfermos de meningitis meningocócica.

También se pueden emplear reacciones de inmunofluorescencia indirecta y de hemaglutinación.

TRATAMIENTO

La penicilina es el antibiótico de elección. Pero a partir de 1960 se ha observado una disminución progresiva de la sensibilidad del gonococo a la penicilina, de manera que la CMI ha pasado de 0,005 a 1,5 μg/ml e incluso a 2 μg × ml (cepas 400 veces más resistentes). Sin embargo, esta disminución de la sensibilidad (resistencia cromosómica) puede contrarrestarse, en la mayoría de los casos, aumentando la dosis de manera que se alcancen concentraciones en suero superiores a la CMI.

El tratamiento de la blenorragia en fase aguda se puede realizar con:

Dosis única:

1. Penicilina G procaína (5 millones de UI) por vía intramuscular. Se logra la curación de la blenorragia en fase aguda y, además, de la sífilis en período de incubación, si se hubiera producido una infección mixta. No es necesario practicar controles serológicos.
2. Ampicilina (3,5 g) o amoxicilina (2 g) por vía oral. No se conoce su acción abortiva sobre la sífilis reciente.

En estos casos, para aumentar la eficacia del tratamiento se puede administrar 1-2 g de probenecid media hora antes de la administración del antibiótico.

3. También espectinomicina o kanamicina (2 g) por vía intramuscular, en casos de resistencia o de alergia a la penicilina.

Dosis múltiples:

1. Tetraciclina (500 mg; 4 veces al día, durante 5 días) que, además, es activa sobre *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, que son causas frecuentes de uretritis posgonocócica.
2. Asociación trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol). Se administran 6 tabletas durante 3 días.
3. Algunas cefalosporinas (cefuroxima y cefoxitina).

En los casos crónicos y con complicaciones se deben emplear dosis mayores y mantenidas durante más tiempo.

Sin embargo, se ha observado la presencia de gonococos con resistencia elevada a la penicilina (CMI > 2 μg × ml), de tipo extracromosómico, debido a la existencia de un plásmido que codifica la síntesis de β-lactamasas. En la mayoría de estos casos fracasa el tratamiento con penicilina, que debe sustituirse por espectinomicina, cotrimoxazol, nuevas cefalosporinas e incluso cloranfenicol o kanamicina. Estas cepas se han detectado en pequeña proporción en la mayoría de países europeos y Estados Unidos, y en proporción elevada en Asia Oriental y Africa Occidental. La OMS aconseja establecer en todos los países un programa de vigilancia para detectar la presencia y proporción de gonococos productores de β-lactamasas.

En el 40 % de los casos tratados con penicilina puede presentarse una uretritis posgonocócica, producida por clamidias o micoplasmas (micoplasmas T, ureaplasmas) y que sólo aparece en el 1 % de los pacientes tratados con tetraciclinas, que son activas frente a estos microorganismos.

Una vez finalizado el tratamiento, hay que practicar cultivos para asegurar la curación y, en caso de fracaso, aislar el gonococo y determinar su resistencia a la penicilina y la producción de β-lactamasas. A los 3 meses, en los pacientes tratados con ampicilina, tetraciclina o espectinomicina, se deben practicar pruebas serológicas para la sífilis.

EPIDEMIOLOGIA

Depende de dos factores principales:

1. Como el gonococo es un parásito humano estricto, el hombre es la única fuente de infección, que está constituida no sólo por los enfermos en fase aguda, sino sobre todo por las formas crónicas y los casos inaparentes u oligosintomáticos, tan frecuentes en la mujer. Recientemente se ha demostrado la importancia de las formas inaparentes en el hombre.
2. Como consecuencia de la escasa resistencia del gonococo a los agentes externos, el contagio es fundamentalmente directo por contacto sexual en la mayoría de los casos. Basta un solo contacto para que se produzca la infección en el 30 % de los casos.

Es una enfermedad de difusión mundial cuya frecuencia ha aumentado mucho a partir de 1955-1960. Se presenta con mayor frecuencia en las grandes ciudades y puertos, en los sectores de población en condiciones higiénicas deficitarias, y afecta casi exclusivamente a las personas en edad de madurez sexual.

PROFILAXIS

La medida principal es la esterilización de las fuentes de infección, lo que comprende: *a)* el diagnóstico y tratamiento

precoz de los casos; *b)* la investigación y tratamiento de los contactos, ya que la mayoría de casos ocurren durante la primera semana de exposición; *c)* exámenes periódicos en la población de alto riesgo, y *d)* educación sanitaria de la población, señalando la importancia del diagnóstico y tratamiento precoz, tanto en los enfermos como en los contactos.

En cuanto a la profilaxis individual, las medidas de protección mecánica sólo producen una protección parcial y la quimioprofilaxis no ha sido estudiada suficientemente a la luz de la disminución de la sensibilidad del gonococo a la penicilina, para conocer con certeza la dosis profiláctica por vía oral. En el momento actual no se considera aconsejable la quimioprofilaxis después de la exposición, pues facilita la selección de cepas más resistentes y puede convertir las infecciones en subclínicas.

La *ophtalmia neonatorum* se evita mediante el método de Crédé, aplicando una gota de una solución de nitrato de plata al 1 % o de antibiótico (penicilina) en las conjuntivas del recién nacido.

Vacunación

No existen vacunas para la prevención de la blenorragia. Aunque la inmunización por vía parenteral induce un aumento específico de resistencia a nivel de las mucosas frente a la cepa homóloga, la gran variabilidad antigénica del gonococo constituye el principal obstáculo para obtener una vacuna eficaz. Se encuentran en período de ensayo vacunas con fimbrias purificadas y proteínas de la membrana externa, y se estudia la posibilidad de emplear otros antígenos como la fracción común de las fimbrias, el polisacárido del LPS y la proteasa IgA1.

BIBLIOGRAFIA

Buchanan, T. M., y Hildebrandt, J. F.: Antigenic-Specific serotyping of *N. gonorrhoeae*: characterization based upon principal outer membrane protein. Infect. Immunol., 32, 985-994, 1981.

Faur, Y. C.; Weisburd, M., y Wilson, M. E.: A new medium for the isolation of pathogenic *Neisseria* (NYC medium). Health Lab. Sci., 10, 61-74, 1973.

Gotschlich, T. M.: Development of a gonorrhoeae vaccine: prospects, Strategies and tactics. Bull. WHO, 62, 671-680, 1984.

Handsfield, H. H.; Lipman, T. O.: Harnisgh, J. P.: Tronca, E., y Holmes, K. K.: Asymptomatic gonorrhea in men, diagnosis, natural course, prevalence and significance. N. Engl. J. Med., 290, 117-123, 1974.

Holmes, K. K.; Counts, G. W., y Beaty, H. N.: Disseminated gonococcal infection. Ann. Intern., 74, 979-993, 1970.

Jacobs, N. F., y Kraus, S. J.: Gonococcal and non-gonococcal urethritis in men. Clinical and laboratory differentiation. Ann. Intern. Med., 82, 7-12, 1975.

Kellog, D. S., y Torner, E. M.: Rapid fermentation confirmation of *N. gonorrhoeae*. Appl. Microbiol., 25, 50-52, 1973.

O'Callaghan, C. H.; Morris, A.; Kirby, S. M., y Shindler, A. H.: Novel method for detection of beta-lactamase by using a chromogenic cephalosporin substrate. Antimicrob. Agents Chemother., 1, 283-288, 1970.

Martin, J. E., y Jackson, R. L: A biological environment chamber for the culture of *N. gonorrhoeae*. J. Am. Vener. Dis. Assoc., 2, 28-30, 1975.

Sparling, P. F., y Lee, T. J.: Gonorrhea: new insights and problems. En Weinstein, L., y Fields, B. N. (dirs.): Seminars in Infectious Disease, vol. I, 34-67, 1978.

Capítulo 32

Corynebacterium y Listeria

José Angel García-Rodríguez

El género *Corynebacterium* está formado por bacilos de 1 a 6 µm de longitud por 0,3 a 0,8 µm de anchura. Aunque estos bacilos son grampositivos, toman la tinción de Gram débilmente y aparecen en ocasiones como gramnegativos. Los extremos suelen ser redondeados y, cuando se observan a partir de las falsas membranas o en los primocultivos, pueden aparecer hipertrofiados y presentar un aspecto similar a un bizcocho o formaciones en maza. En ocasiones poseen gránulos de polimetafosfato (granulaciones de Babés-Ernst), que se tiñen intensamente por los colorantes básicos, como el azul de metileno, o por tinciones especiales, como la de Neisser. Debido a que la separación celular no suele ser completa en las primeras fases de la división, se presentan en L, X, V, Y, en empalizada o adoptando una configuración especial que recuerda las letras chinas. Son inmóviles, no esporulados y con alguna ligera tendencia a la ramificación. Son catalasa-positivos, y a pesar de considerarse como anaerobios facultativos, crecen mejor en aerobiosis y producen un velo superficial en los medios líquidos. No son ácido-alcohol-resistentes, pero presentan rasgos comunes con micobacterias y nocardias, ya que su pared contiene ácido mesodiaminopimélico, arabinosa, galactosa y ácidos micólicos.

La especie tipo y más importante en patología humana es *C. diphtheriae*. Otras especies patógenas para el hombre, responsables de bacteriemias, endocarditis, osteomielitis, infecciones respiratorias, infecciones de heridas e infecciones urinarias son *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*, *C. xerosis* y *C. pilosum*. Algunas se comportan como oportunistas en inmunodeprimidos.

Corynebacterium diphtheriae

CARACTERISTICAS Y ESTRUCTURA ANTIGENICA

Es un bacilo grampositivo, inmóvil y no capsulado, con tendencia al pleomorfismo. Presenta granulaciones metacromáticas y suele aparecer agrupado en L, X, Y, V, empalizada o letras chinas. Es aerobio y anaerobio facultativo. Crece en medios ordinarios, pero mejor en suero coagulado (medio de Loeffler) o medios con telurito, y da en este último colonias de color negro a grisáceo.

Fue observado por Klebs en 1883 en las membranas diftéricas y cultivado un año después por Loeffler, quien describió sus características. Más tarde se comprobó que filtrados obtenidos a partir de cultivos de bacilo diftérico eran letales para el cobayo y se demostró así la existencia de una potente toxina fundamental en la patogenia de la enfermedad.

Aunque todas las toxinas diftéricas son inmunológicamente idénticas, *C. diphtheriae*, sin embargo, es una especie muy heterogénea desde el punto de vista antigénico. Posee dos antígenos:

Antígeno K. Está situado en la capa superficial de la pared bacteriana. Es proteico, termolábil y tipoespecífico, inmunógeno y posiblemente responsable de la reacción de hipersensibilidad. Junto con el *cord factor*, es el mayor determinante de la invasividad y virulencia de la bacteria.

La existencia de diferentes tipos antigénicos de *C. diphtheriae* es probablemente la causa de la aparición de enfermedad en personas inmunizadas que presentan niveles detectables de antitoxina.

Antígeno O. Es un polisacárido de grupo, termoestable y común a todas las corinebacterias, responsable de las reacciones cruzadas, que se dan con micobacterias y nocardia.

ACCION PATOGENA

Determinantes de patogenicidad

Existen varios factores de patogenicidad: El antígeno K, *cord factor*, hialuronidasa, neuraminidasa y ADNasa, que contribuyen a que la bacteria invada la superficie de las membranas mucosas de las vías respiratorias altas, desde donde liberan la toxina.

Aunque no produce hemolisina difusible, en medios de agar-sangre puede dar una pequeña zona de hemólisis si-

tuada debajo o alrededor de las colonias. Esta hemolisina no tiene un papel demostrado en la patogénesis de la enfermedad.

Antígeno K. Es antifagocitario.

Cord factor. Es un glicolípido tóxico (6,6' diéster de trehalosa), que posee los ácidos micólicos característicos de *C. diphtheriae*: Acido corinemicólico ($C_{32}H_{62}O_3$) y corinemicolénico ($C_{32}H_{64}O_3$). Su actividad farmacológica es similar al cord *factor* aislado de *Mycobacterium tuberculosis*. En el ratón lesiona las mitocondrias, disminuye los procesos de respiración y fosforilación, y ocasiona la muerte celular.

Hialuronidasa y ADNasa. Son factores de difusión que contribuyen al edema, necrosis y hemorragia.

Neuraminidasa. Degrada los residuos de ácido N-acetilneuramínico, que existen en las células de epitelio y favorece, por tanto, la colonización.

Exotoxina

La síntesis de toxina diftérica está en relación con un mecanismo controlado por el gen de un fago, que convierte la bacteria receptora en lisógena y le confiere al mismo tiempo el carácter toxigénico. Existe, por tanto, correlación entre lisogenia y toxinogénesis.

La presencia del carácter tóxico se debe a que llevan un gen estructural responsable de él, el gen tox. Las cepas toxigénicas (tox +) son portadoras del profago β y las no toxigénicas (tox–) pueden convertirse en toxigénicas por lisogenización con el fago temperado.

En definitiva, la toxina se produce por las cepas de *C. diphtheriae* lisógenas para el bacteriófago β, que es el que lleva el gen estructural tox. El gen tox se ha detectado también en otros corinebacteriófagos diferentes genéticamente, lo que hace suponer que el gen tox está muy difundido en la población de corinebacteriófagos.

La regulación de la síntesis de la toxina diftérica es compleja. Las cepas de *C. diphtheriae* toxigénicas varían ampliamente en su capacidad de producir aquélla. Además, está influida por las condiciones ambientales y del medio de cultivo. La síntesis y liberación de toxina se inhiben cuando se incrementa el contenido de hierro inorgánico. El éxito durante muchos años de la cepa 8 de Park-Williams, para la producción comercial de toxina, se debe a su capacidad para crecer muy bien en medios pobres en hierro.

El modelo que a nivel molecular se ha propuesto reflejar la regulación de la producción de toxina es el siguiente: *C. diphtheriae* posee un gen (ctr) que lleva la información estructural para la síntesis de un aporrepresor tox (ar). En presencia de hierro puede formarse un complejo represor-hierro (rte) y unirse específicamente al locus operador tox del fago. En condiciones de escaso contenido de hierro, el complejo hierro-represor puede disociarse y el gen tox deja de estar reprimido.

Propiedades

La toxina diftérica se produce y se libera hacia el exterior en forma de una simple cadena polipeptídica, de peso molecular de 61.000 daltons. Esta cadena, que íntegra no es tóxica, posee dos puentes disulfuro, uno de los cuales se hidroliza fácilmente por la tripsina y proteasas bacterianas, lo cual hace que la toxina adquiera propiedades tóxicas y aparezcan dos fragmentos A y B (fig. 32-1). En el fragmento B existe un puente disulfuro, que, cuando se rompe, da lugar a dos cadenas y consiguiente pérdida de la mayor parte de la toxicidad.

Las propiedades biológicas de los dos fragmentos A y B son distintas, pero ambos son necesarios para la acción tóxica en las células animales y cultivos celulares.

El fragmento A tiene un peso molecular de 21.000, es el fragmento enzimáticamente activo que penetra en el interior de las células y es, además, responsable de la inhibición de la síntesis proteica.

El fragmento B es esencial para la unión de la toxina a las células eucariotas y el paso del fragmento A al citoplasma.

Los animales varían en su sensibilidad a la toxina diftérica. Esta es letal para el hombre, conejo y cobayo. Las ratas y ratones son más resistentes, posiblemente a causa de que sus células muestran algún defecto en la unión de la toxina a los receptores de la membrana celular o en el transporte al interior de la célula del fragmento A.

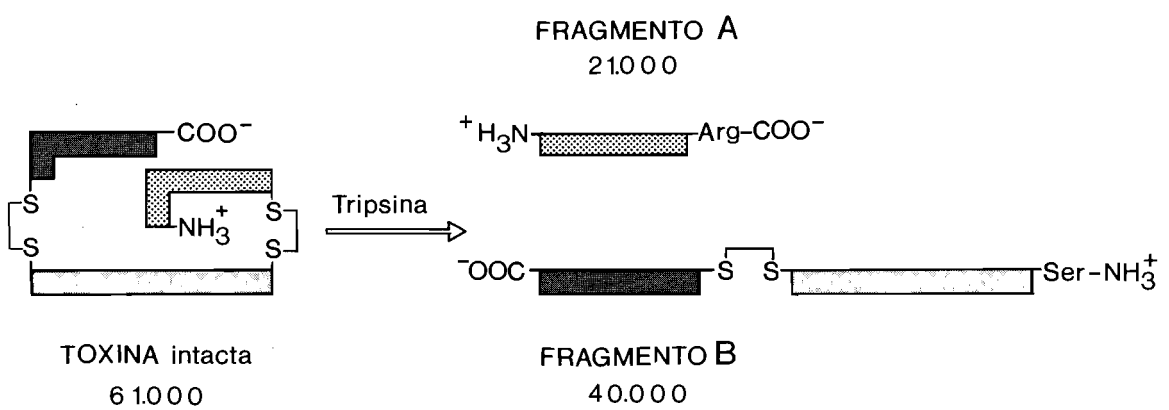


Fig. 32-1. Separación de los dos fragmentos A y B de la toxina diftérica.

Modo de acción

Aunque no se conoce la naturaleza de los receptores de la membrana celular ni el mecanismo por el que el fragmento A atraviesa ésta, ciertos datos indican que el receptor específico puede ser una glicoproteína que contiene un oligosacárido. Se ha sugerido que se produce una interacción entre estos receptores específicos de la membrana y el residuo terminal COO^- del fragmento B. A continuación se produce un cambio estructural en la toxina, que la hace hidrofóbica, permitiendo la inserción del fragmento B en la membrana, el cual abrirá un canal por el que posteriormente se introduce el fragmento A hacia el citoplasma. El fragmento B permanece por fuera de la membrana.

La toxina diftérica por medio de su fragmento A inhibe la síntesis proteica de las células eucariotas sin inhibición de otras funciones metabólicas ni daño evidente de la membrana celular.

El fragmento A inhibe la elongación de la cadena polipeptídica, siempre y cuando exista nicotinamida-adenín-dinucleótido (NAD), inactivando el factor de elongación 2 (FE-2), que es necesario para la translocación del polipeptidil-RNA-t desde el receptor al sitio donante de los ribosomas eucarióticos. El fragmento A, al inactivar el factor FE-2, cataliza una reacción que libera nicotinamida libre, más un complejo inactivo de FE-2-ADPR (adenosín-difosfo-ribosa). La reacción que cataliza, en definitiva, la toxina diftérica es la siguiente:

$$FE\text{–}2 + NAD \overset{\text{toxina}}{\rightleftharpoons} ADPR - FE\text{-}2 + \text{nicotinamida} + H^+$$

La toxina no tiene efecto sobre las procariotas, porque en éstas una proteína diferente FE-G reemplaza el factor FE-2. Este mecanismo de acción es muy similar al de la toxina de *Pseudomonas aeruginosa.*

Titulación

Puede realizarse *in vitro* en unidades floculantes (Lf): una unidad floculante es la mínima cantidad de toxina que flocula ante un patrón de antitoxina. Este patrón neutraliza 30 DLM para el cobayo.

In vivo puede realizarse como DLM (mínima cantidad de toxina, que ocasiona la muerte, en 96 horas, de un cobayo que pesa 250 g) o mejor como DL/50 (mínima cantidad de toxina que provoca la muerte del 50 % de un lote de cobayos de 250 g de peso). Menos utilizada es la «dosis mínima reaccional (DRM), que es la mínima cantidad de toxina, que, inoculada en la piel de un conejo, le provoca una zona de necrosis de alrededor de 8 mm de diámetro.

Antitoxina

Como los dos fragmentos contienen varios determinantes antigénicos, la antitoxina es una mezcla de anticuerpos específicos frente a las diferentes partes de la molécula. Los anticuerpos frente al fragmento A inhiben la actividad enzimática de la toxina, pero no protegen a los animales de la acción letal de la misma. Por el contrario, los anticuerpos frente al fragmento B neutralizan eficazmente la toxina, lo que hace pensar que la antitoxina impide la fijación de aquélla a los receptores de la membrana.

Toxoide

El calor a 37 °C y el formol al 0,3 % detoxifican la toxina y la convierten en toxoide. El formol altera tanto la actividad enzimática del fragmento A como la capacidad de unión del fragmento B a las células. La alteración parece ser debida a una modificación química de algún residuo esencial de la toxina o bien a la unión interna de lisina y tirosina por puentes metilados.

Patogenia

El bacilo diftérico normalmente penetra por vía respiratoria, invade el epitelio de amígdalas y orofaringe, y no pasa casi nunca a la circulación general. En este primer paso desempeñan un papel importante el antígeno K, cord *factor*, hialuronidasa, neuraminidasa y ADNasa. Se multiplica en estas superficies mucosas sintetizando y liberando la toxina, la cual se absorbe en la mucosa o inhibe la síntesis proteica celular, con lo que se produce la muerte y necrosis de estas células epiteliales y una respuesta superficial inflamatoria y necrótica. El epitelio necrosado queda incluido en fibrina, leucocitos y exudados, y se forma una «pseudomembrana», de color grisáceo, que recubre las amígdalas. La propagación en superficie puede originar una extensión de estas «pseudomembranas» a nasofaringe, laringe, tráquea e incluso bronquios, provocando problemas obstructivos respiratorios. La «pseudomembrana» está muy adherida, y cualquier intento para eliminarla rompe los capilares y produce una hemorragia.

C. diphtheriae se multiplica bien en esta «pseudomembrana» y la toxina liberada pasa por vía linfática a la sangre difundiendo por todo el organismo, pero con especial apetencia por riñón, músculo, nervios, miocardio y suprarrenales. En estos órganos inhibe la síntesis proteica celular, por lo que aparecen áreas de necrosis local y se altera el metabolismo normal de los órganos afectados. En consecuencia, aparecen áreas de necrosis, degeneración parenquimatosa, infiltración grasa y a veces hemorragias. Como consecuencia de las lesiones que origina en el tejido nervioso, puede ocasionar una parálisis del velo del paladar, músculos oculares o extremidades.

La patogénesis de la difteria cutánea es similar, pero, como la toxina se absorbe peor, las manifestaciones a distancia son menores.

En resumen, *C. diphtheriae*, aunque posee una ligera capacidad invasiva, ejerce una acción a distancia por medio de su toxina.

Manifestaciones clínicas

Difteria respiratoria

Las manifestaciones clínicas generalmente traducen la existencia de un proceso obstructivo de vías respiratorias y un estado de enfermedad hipertóxica grave.

La sintomatología depende de tres factores:

1. Situación del paciente (edad, estado inmunitario, existencias de otras enfermedades sistémicas, lesiones nasofaríngeas previas, etc.).
2. Localización anatómica del proceso.
3. Virulencia y toxinogénesis del bacilo.

Tras un período de incubación de 2-6 días se desarrolla una faringitis con fiebre, a la que sigue pronto un estado de postración y disnea debido a la obstrucción por la «pseudomembrana». A continuación aparecen los signos tóxicos, que se traducen fundamentalmente por afectación del miocardio (miocarditis) con alteraciones electrocardiográficas, palidez, hipotensión, colapso periférico y a veces trombocitopenia, y surge así un cuadro de extraordinaria gravedad que puede ser mortal.

Como se señalaba anteriormente, las manifestaciones clínicas dependen de la localización. Las formas clínicas más frecuentes son:

Difteria nasal. Va acompañada de descarga mucopurulenta y apenas existen signos tóxicos.

Difteria amigdalar. Es la que más se parece al cuadro clínico descrito anteriormente. Puede afectar una o ambas amígdalas. El signo más común es la fiebre. Existen adenopatías regionales moderadas y signos de toxemia.

Difteria faríngea. La obstrucción respiratoria es intensa. Las adenopatías son más manifiestas y aparece un edema amplio en la zona del esternocleidomastoideo y clavícula. Existen signos graves de toxemia. El llamado «hedor diftérico», que antes se creía que era característico de esta afección, hoy se sabe que también puede aparecer en otras afecciones (mononucleosis infecciosa, angina de Vincent, etc.).

Difteria laríngea y bronquial. En este caso predominan desde el principio los signos de obstrucción respiratoria aguda (estridor, disnea, cianosis). La muerte es rápida si no se eliminan las membranas con un broncoscopio.

Difteria cutánea

Es frecuente en áreas tropicales. Se produce por abrasiones cutáneas o picaduras de insectos. Se caracteriza por la aparición de una membrana sobre la herida que impide su cicatrización. Apenas existen signos generales de toxemia. El principal papel de *C. diphtheriae* en este tipo de lesiones es el de reservorio.

Otras formas clínicas

Se han descrito lesiones diftéricas en boca, ojos, oído medio e incluso vagina.

Por último, aunque se trata de una complicación rara, existe la *endocarditis infecciosa diftérica* por llegada de *C. diphtheriae* a válvulas cardiacas lesionadas o no. En este caso, los hemocultivos suelen ser positivos.

DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

Recogida y transporte de muestras

Las muestras se obtienen mediante raspado con hisopo de fosas nasales, amígdalas o lesiones sospechosas. Estos raspados es conveniente efectuarlos previamente a la administración de antimicrobianos.

Si la siembra no se realiza inmediatamente, el hisopo se conservará humedecido en suero estéril de caballo para mantener la viabilidad de los bacilos.

Examen microscópico directo

Carece de valor, pues son frecuentes tanto los falsos positivos, como los falsos negativos.

Aislamiento y cultivos

Se trata de un microorganismo aerobio y anaerobio facultativo, pero crece mejor en aerobiosis. Las muestras deben

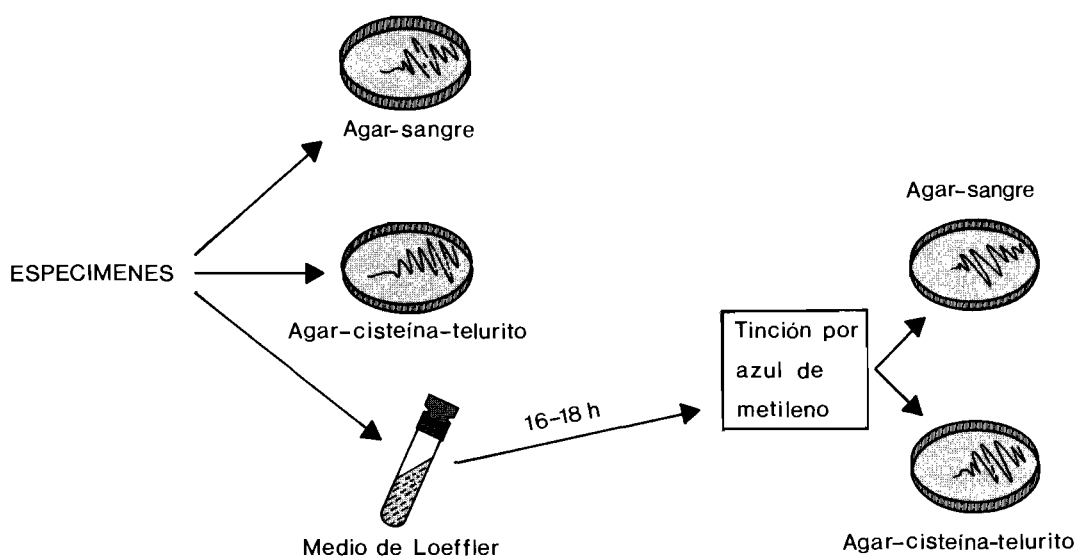


Fig. 32-2. Esquema de la marcha de aislamiento de *C. diphtheriae*.

ser inoculadas en tres medios de cultivo: Loeffler, agar-cisteína-telurito y agar-sangre.

La marcha que hay que seguir para el precitado aislamiento aparece reflejada en la figura 32-2.

La tinción con azul de metileno de las colonias aparecidas en el medio de Loeffler puede servir de guía. Conviene señalar que, en ocasiones, algunas cepas de *C. diphteriae* son inhibidas por completo en la placa de agar-cisteína-telurito, por lo que siempre debe investigarse la presencia de corinebacterias en la placa de agar-sangre.

Identificación

Se basa en el estudio de:

Aspecto de las colonias

1. En el medio de Loeffler (suero coagulado), las colonias son pequeñas, granulosas, grisáceas y con bordes irregulares, y se unen entre sí; la superficie del medio aparece ligeramente embadurnada, aspecto que traduce el crecimiento. Aparecen antes que las de otros microorganismos patógenos.
2. En el medio de agar-cisteína-telurito, su coloración oscila de gris a negro, debido a que el telurito es reducido intracelularmente. Existen tres variedades o biotipos:

a) Biotipo *gravis:* colonias generalmente no hemolíticas, grandes, grises, con bordes irregulares y de superficie estriada.

b) Biotipo *mitis:* colonias hemolíticas, pequeñas, negras, con bordes regulares y de superficie lisa.

c) Biotipo *intermedius:* colonias no hemolíticas, pequeñas, de superficie ligeramente estriada, de bordes rugosos y con periferia de color gris y centro negruzco.

La correlación entre estos biotipos y la severidad de la enfermedad no está claramente establecida.

3. En medios con caldo, las cepas del biotipo *gravis* forman un velo superficial, las del biotipo *mitis* crecen en forma difusa y las del *intermedius* dan lugar a un sedimento granuloso.

Examen microscópico

Aparecen como bacilos grampositivos de 0,5 × 1 μm de diámetro y varios micrómetros de longitud. A veces son pleomorfos o con extremos en forma de maza. Contienen granulaciones metacromáticas, que les dan un aspecto arrosariado y son frecuentes las agrupaciones ya señaladas.

Cuando se realiza una tinción con azul de metileno, a partir de un medio de Loeffler, los tres biotipos tienen morfología distinta:

a) Biotipo *gravis:* aspecto cocoide y con pocas granulaciones.

b) Biotipo *mitis:* largo y con abundantes granulaciones.

c) Biotipo *intermedius:* pleomorfo y con granulaciones en los extremos.

Características bioquímicas

Son catalasa y nitrato-positivos. No hidrolizan en absoluto la urea. Producen ácido sin gas a partir de la glucosa y maltosa.

Pruebas de toxigenicidad

In vivo. Se realiza la prueba de protección en el cobayo por inoculación subcutánea. Se utilizan dos cobayos, uno de los cuales sirve de control. La marcha que hay que seguir es la siguiente: El cobayo control se inyecta intraperitonealmente con 500-1.000 U de antitoxina diftérica. Una ó 2 horas después se inoculan ambos por vía subcutánea con 5 ml de una suspensión en caldo (no debe hacerse en solución salina, pues *C. diphtheriae* pierde rápidamente la viabilidad) preparada a partir de un cultivo en medio de Loeffler. Si se trata de una cepa toxigénica, a los 2-4 días se produce una zona de necrosis en el sitio de la inoculación y la muerte del animal no protegido. En la autopsia, el hecho más llamativo es la hemorragia de las glándulas suprarrenales.

In vitro. Se realiza un test de inmunodifusión (test de Elek). En una placa de agar, a la que se incorpora suero de conejo y una solución de telurito potásico al 0,3 %, se coloca una tira de papel de filtro con antitoxina diftérica. A continuación se siembran perpendicularmente a ésta las cepas problema junto con dos cepas control (una toxigénica y otra no toxigénica) y se procede a la incubación a 37 °C durante 18-24 horas. Una reacción positiva se manifiesta por aparición de una línea de precipitación que forma un ángulo de 45° con la línea de siembra de las cepas toxigénicas.

TRATAMIENTO

Medidas generales

Incluyen el tratamiento de la miocarditis, arritmias, mantenimiento de la permeabilidad de las vías respiratorias, etc.

Seroterapia

Es la medida fundamental. Como se utiliza antitoxina heteróloga (caballo), debe efectuarse previamente la prueba intradérmica o conjuntival correspondiente para comprobar si existe o no hipersensibilidad al suero de caballo. En el primer caso puede intentarse la desensibilización, ya que la seroterapia es la única arma eficaz del tratamiento.

La administración se realiza en una sola dosis y oscila entre 20.000 y 100.000 U de antitoxina, de acuerdo con la gravedad del cuadro. Se hará tan pronto como se haya establecido el diagnóstico y la vía de administración es la intramuscular. En casos graves debe emplearse la vía intravenosa.

La antitoxina neutraliza sólo la toxina circulante, pero no la que ya está fijada a las células.

Antibióticos

Se utiliza penicilina o eritromicina, que, aunque no modifican el curso de la enfermedad, eliminan *C. diphtheriae* de

las vías respiratorias y evitan, por tanto, la aparición de portadores.

EPIDEMIOLOGIA

Fuente de infección

Comprende el hombre enfermo y sobre todo los portadores en sus tres versiones: convalecientes, sanos y en período de incubación, en especial los primeros, pues el 20 % de los convalecientes albergan bacilos diftéricos en sus vías respiratorias altas durante 3 meses y un 3 % pueden continuar mostrándolos durante mucho más tiempo. La eliminación se realiza a través de las secreciones nasobucofaríngeas al hablar, toser, estornudar, etc.

Mecanismo de transmisión

Es fundamentalmente directo a través de las gotitas de Pflügge y objetos recientemente contaminados, pero también es posible un contagio indirecto por núcleos goticulares de Wells y fomites. La transmisión por medio de leche contaminada por manipuladores portadores del germen es también posible.

Factores epidemiológicos

Es más frecuente en invierno, primavera y en situaciones de hipoalimentación, fatiga y hacinamiento. Las epidemias no aparecen nunca de forma explosiva, sino insidiosa, con casos sueltos, a veces, sin conexión entre sí.

Un factor importante que hay que tener en cuenta es la situación inmunitaria de las personas, que está en relación con la tasa de antitoxina circulante (se ha comprobado que también influye la inmunidad local en las vías respiratorias). Esta inmunidad antitóxica se origina por padecimiento de la infección, incluso de forma subclínica, o como consecuencia de la vacunación. Puede transmitirse a través de la placenta o por transfusión sérica.

Con la introducción de la vacunación, los niños pequeños han dejado de ser el principal núcleo de población afectado, ya que los niveles de antitoxina se mantienen en general altos hasta llegar a la adolescencia. Si a esto unimos el hecho de que, al disminuir la incidencia de la difteria en niños, se ha reducido el número de portadores (con lo que no hay oportunidad para que se produzcan reinfecciones asintomáticas en la adolescencia y edad adulta), tendremos la explicación de por qué los adultos apenas presentan inmunidad antitóxica.

Aunque puede recurrirse a la titulación de la antitoxina en el suero, el mejor procedimiento para determinar el estado de inmunidad individual es la reacción de Schick: La inyección en el antebrazo por vía intradérmica de 0,1 ml de toxina diluida (1/50 DLM para el cobayo) provoca en las personas no protegidas una reacción local eritematosa, que va acompañada de edema e induración de la piel, con un máximo de intensidad al cuarto día, y que al desaparecer deja un área pigmentada de color pardo. Si la persona posee inmunidad (más de 0,03 U/ml), la antitoxina neutraliza *in situ* la toxina inoculada y no aparece reacción. Siempre debe realizarse una inyección intradérmica en el otro antebrazo con una cantidad igual de toxina calentada inactiva (60 °C durante 15 min), que servirá de testigo.

A veces se observan reacciones alérgicas que pueden ser de dos tipos:

Pseudorreacción. Se produce en individuos que son inmunes. Se caracteriza por la aparición de un eritema tanto en el sitio de inyección del testigo como en el de la inoculación de la toxina. Ambos alcanzan un máximo a las 24-36 horas y desaparecen por completo a las 72 horas.

Reacción combinada. Se produce en individuos no inmunes o con escasa inmunidad. Se inicia igual que la pseudorreacción, pero el eritema desaparece antes del lugar de inoculación del testigo que del sitio donde se inyectó la toxina activa.

PROFILAXIS

La profilaxis sobre la fuente de infección (enfermos) se basa en: aislamiento en centro hospitalario, tratamiento precoz, declaración obligatoria de la enfermedad y desinfección concurrente para evitar la diseminación del *C. diphtheriae*. Se hará asimismo un control y esterilización de los portadores convalecientes con eritromicina o penicilina durante 6 días y se realizará un cultivo de control 2 semanas después de finalizar el tratamiento.

La población sana se defiende mediante seroprofilaxis en los casos de contacto con enfermos (1.000 a 3.000 U) y sobre todo con la vacunación.

La vacuna antidiftérica es una vacuna química: La anatoxina, que se obtiene tratando la exotoxina por el calor a 37 °C y formol al 0,3 % (como preconizó Ramón en 1923), puede emplearse como toxoide líquido o precipitado en hidróxido de aluminio. Ambos son excelentes antígenos.

La anatoxina es un producto estable muy antigénico, que, como la toxina, se titula por métodos de floculación, y la anatoxina que posee de 30 a 50 Lf resulta adecuada.

La vacuna es obligatoria en España desde 1943 para la población infantil y se aplica en tres dosis. Actualmente se preconiza la vacuna triple DTP (difteria, tétanos, tos ferina), vacuna mixta que contiene por mililitro 30 Lf de anatoxina diftérica precipitada, 25 Lf de anatoxina tetánica y de 20 a 30×10^9 gérmenes muertos de *Bordetella pertussis*, en fase I de Leslie y Gardner.

La vacuna se dispensa en 3 dosis de 1 ml en el 3.er, 5.° y 7.° mes de vida por vía subcutánea, con una inyección de recuerdo al 18 mes, y revacunación a los 4-6 años.

La vacuna no suele presentar reacciones generales, aunque puede dar algunas manifestaciones locales leves (eritema, edema, etc.). Protege al 90-95 % de la población durante varios años.

Si se vacuna a niños mayores o adultos, debe practicarse antes la reacción de Maloney (sensibilidad alérgica a la vacuna diftérica) o a otras corinebacterias, empleando toxoide líquido diluido al 1/10 en cantidad de 0,1 ml por vía intradérmica. En la actualidad se dispone de un toxoide altamente purificado para evitar estos efectos indeseables en los adultos.

Listeria monocytogenes

El género *Listeria* incluye 8 especies, de las que *L. monocytogenes* tiene importancia en clínica humana y es el agente etiológico de la listeriosis.

CARACTERISTICAS GENERALES

Morfología

En los productos patológicos o en cultivos recientes se presenta como un bacilo corto (2 µm de longitud por 0,5 µm de anchura), recto o ligeramente incurvado, de bordes redondeados. Aparece aislado, en pequeños grupos, en cadenas cortas, en empalizada o adoptando formas en V o L. En cultivos más viejos puede aparecer filamentoso.

Este bacilo posee cuatro flagelos en disposición perítrica o subterminal. En gota pendiente presenta movimientos en pirueta, con desplazamientos rápidos en el campo microscópico. La movilidad a 37 °C es mínima o nula, y a temperatura de laboratorio es óptima. No es esporulado ni capsulado y da lugar a formas L, cuando se cultiva en medios con penicilina o glicina.

Coloración

Se tiñe bien por los colorantes derivados de la anilina. Toma la tinción de Gram uniformemente. Sin embargo, cuando se fuerza la decoloración o en cultivos viejos, pierde la grampositividad. No presenta granulaciones metacromáticas ni zonas cromófilas o cromófobas en el citoplasma.

Resistencia

Tiene una vitalidad bastante grande. Los cultivos pueden permanecer vivos y virulentos durante varios meses a la temperatura de laboratorio y durante varios años en agar-sangre a + 4 °C. No se mantiene en medios glucosados. Resiste temperaturas de 56 °C durante media hora y muere al cabo de 1 hora. Es sensible a los agentes químicos habituales.

Tabla 32-1. Serotipos de L. monocytogenes

Serotipo	Antígeno O	Antígeno H	Antígeno esp.
Ia	1, 2 y (3)	ab	1
Ib	1, 2 y (3)	abc	c
II	1, 2, (3)	bd	d
IIIa	2, (3), 4	ab	4
IIIb	2, (3), 4	abc	c
IVa	(3), (5), 7, 9	abc	9
IVb	(3), 5 y 6	abc	6
IVc	(3), 5 y 7	abc	7
IVab	(3), 5, 6, 7, 9	abc	6-9
IVd	(3), 6, 8	abc	8
IVe	(3), 5, 6, 8, 9	abc	5-6-8-9

( ) Antígeno irregularmente presente.

Estructura antigénica e inmunidad

Como todo germen móvil, *L. monocytogenes* posee antígenos flagelares (H) (4 tipos: a, b, c, d) y somáticos (O) (9 tipos: 1 al 9). Estos caracteres antigénicos han permitido separar cuatro grupos serológicos (I, II, III, IV) y 11 serotipos (tabla 32-1). Los serotipos Ib y IVb son los responsables de las dos terceras partes de los casos clínicos y tienen una prevalencia similar.

Ciertos antígenos del género *Listeria* son comunes a estafilococo y enterococo, pero no se han encontrado aglutininas antilisteria en el conejo inmunizado frente a estafilococo ni aglutininas antiestafilococo en el conejo inmunizado frente a *Listeria*. También ésta da reacciones serológicas cruzadas con *E. coli* y corinebacterias.

La infección por *L. monocytogenes* ocasiona la aparición de anticuerpos humorales. La inmunidad celular es importante y la resistencia también es mediada por linfocitos timodependientes y activadores de macrófagos.

ACCION PATOGENA

Determinantes de patogenicidad

L. monocytogenes da lugar a diversos cuadros infecciosos en el hombre y en los animales, cuya aparición está en relación con la virulencia del germen y el estado de huésped.

Ningún estudio con *L. monocytogenes* ha confirmado la presencia de exotoxina, pero sí posee endotoxina, cuya actividad es similar a la de los bacilos gramnegativos.

Este microorganismo muestra una capacidad hemolítica sobre eritrocitos de diversas especies animales y una actividad lipolítica. Se ha demostrado que estas acciones corresponden a dos antígenos diferentes: la hemolisina y un antígeno lipolítico, el cual está relacionado con la virulencia.

La hemolisina, denominada listeriolisina, es una citolisina oxígeno-lábil, semejante a la producida por otros microorganismos que tienen acción cardiotóxica. Cuando se inocula por vía intravenosa al ratón, produce bradicardia e inhibición de la conducción auriculoventricular. Es letal para los animales y probablemente actúa rompiendo membranas, especialmente de las vacuolas fagocíticas y de los lisosomas.

La respuesta monocítica, que aparece en estas infecciones, se debe a la existencia en el microorganismo de un lípido no tóxico, denominado «agente productor de la monocitosis».

L. monocytogenes, al igual que *Brucella melitensis* y *Mycobacterium tuberculosis*, es capaz de crecer y multiplicarse dentro de las células del sistema reticuloendotelial. Esta propiedad está relacionada con la virulencia y probablemente se deba a componentes superficiales de la bacteria o

al LPS endotóxico. Los microorganismos sobreviven dentro de los monocitos, lo que permite su diseminación y resistencia a los agentes antimicrobianos.

En cuanto al estado del huésped, la listeriosis es más frecuente en individuos inmunodeprimidos o tratados con inmunosupresores, que reciben trasplantes renales o afectos de mieloma, colagenosis, tumores, cirrosis hepática o diabetes mellitus.

Como la inmunidad que interviene en las infecciones por listerias es de tipo celular, la listeriosis es mucho más frecuente en los cuadros en que aquélla está comprometida.

Patogenia

La infección de feto puede surgir por dos mecanismos. En el primero, tras una bacteriemia de la madre, se infecta la placenta y, posteriormente, el feto a través de la vena umbilical y aparece septicemia, que origina afectación del SNC, con aparición de meningitis y lesiones granulomatosas en diversos órganos. El líquido amniótico se infecta por la excreción de las listerias por la orina fetal. En el segundo mecanismo, el feto se infecta durante el parto con las secreciones de la madre.

En el adulto no se conoce muy bien la vía de entrada, pero existen casos en los que hay pruebas de que la infección se produce por contacto con secreciones infectadas, ingestión de alimentos contaminados o el polvo. Una vez que *L. monocytogenes* penetra en el organismo, hay una bacteriemia mediante la cual llega a las diversas localizaciones y produce lesiones granulomatosas y purulentas.

Manifestaciones clínicas

Listeriosis neonatal

Es la forma más frecuente y esquemáticamente se pueden distinguir dos formas de listeriosis neonatal: precoz y tardía.

La forma precoz, que se observa en los 4 primeros días de la vida y a menudo en prematuros, se traduce en la mitad de los casos por septicemia. El niño nace en estado de muerte aparente con rinitis purulenta, hepatomegalia, esplenomegalia, erupción cutánea de tipo petequial y máculopápulo-vesiculosa, y a veces nódulos faríngeos. A menudo puede asociarse una meningitis. Esta forma que también se conoce por la denominación de «granulomatosis infantiséptica» se asocia con complicaciones en la madre.

En la forma tardía, los síntomas aparecen a partir de la primera a la cuarta semana y se trata eventualmente de meningitis y rara vez de septicemia. El pronóstico es mucho mejor que en la forma precoz. La afección pulmonar es frecuente: granulomatosis pulmonar, bronconeumonía listeriana primitiva (debida a la aspiración de líquido o secreciones vaginales infectadas) o neumopatía intersticial por sustancias tóxicas liberadas por la bacteria. Esta forma se asocia con peso normal al nacimiento y ausencia de complicaciones maternas.

Se han señalado, además, formas atenuadas (ganglionares, oculares) e incluso inaparentes.

Listeriosis del adulto y del niño

Listeriosis meningoencefálica. Después de la neonatal, es la más frecuente. Se trata de una meningitis supurada aguda, pero el aspecto citológico del LCR (con predominancia de linfocitos) y los signos clínicos pueden simular una meningitis tuberculosa. Se observan igualmente meningoencefalitis y rara vez encefalitis.

Aparece por igual en el adulto joven que en el anciano, aunque la edad media es de los 50 a los 60 años. El pronóstico es variable según la edad; la mortalidad global es de alrededor del 40 %, baja al 10 % en los menores de 20 años y sube al 55 % en los que sobrepasan los 60 años. Como en todas las meningitis, pueden observarse secuelas neurológicas graves.

Listeriosis septicémica. Dejando aparte los casos en que por hemocultivo se aísla *L. monocytogenes* a partir de sujetos afectos de meningitis supurada y es difícil establecer cuál es el fenómeno primitivo, existen septicemias aisladas. Pueden ir acompañadas de localizaciones pulmonares, a veces endocarditis y alteraciones hepáticas y rara vez un cuadro similar a la granulomatosis del recién nacido.

Formas raras. Las afecciones oculares no son excepcionales, lo cual no sorprende, dada la afinidad de las listerias por el ojo, como lo demuestra el test de Antón para el conejo. En patología humana, es esencialmente en el curso de la listeriosis neonatal donde aparece una conjuntivitis debida a la siembra por gérmenes presentes en la vagina o en el líquido amniótico. La afección ocular aislada es excepcional, y la afección con participación glandular es más frecuente.

Se han señalado casos de aneurismas supurados consecutivos a intervenciones por estenosis aórtica. Las lesiones cutáneas, tan frecuentes en la listeriosis neonatal, son muy raras en el adulto. Se ha señalado una forma «anginosa» con mononucleosis sanguínea.

Listeriosis en la mujer embarazada

Si la contaminación tiene lugar al comienzo del embarazo, provoca como consecuencia el aborto al 5.º ó 6.º mes. Si la infección es más tardía, el parto puede tener lugar a término, a pesar de que lo habitual es que sea prematuro. El niño nace muerto o con granulomatosis generalizada. La importancia del papel de *L. monocytogenes* en los abortos de etiología infecciosa es cierta. Se ha considerado que, después de una listeriosis, los gérmenes podrían persistir en las vías genitales de la mujer y ser responsables de abortos reiterativos.

La madre puede presentar infecciones localizadas en el aparato genitourinario, vaginitis, cistitis, pielonefritis (a menudo crónicas y habitualmente sin gravedad), infecciones generalizadas (en general de tipo pseudogripal, más rara vez bajo forma de meningitis aguda y excepcionalmente con septicemia) e infecciones frustradas o inaparentes, que entrañan asimismo infección del feto.

El cuadro clínico de la listeriosis es, por lo tanto, polimorfo, pero, en líneas generales, las meningoencefalitis constituyen un patrimonio del adulto y adolescente, las septicemias lo son del recién nacido, y las formas localizadas, y sobre todo inaparentes, lo son de la mujer embarazada.

DIAGNOSTICO

Diagnóstico bacteriológico

Muestras

En los casos de bacteriemia, meningitis y meningoencefalitis se debe partir de la sangre y del LCR. Tomas vaginales, oculares, secreciones purulentas, tejidos de necropsia y sobre todo meconio pueden ofrecer aislamientos positivos según las circunstancias. Estos productos deben mantenerse, tras el procesado inicial, a 4 °C, entre 1 y 6 meses.

Examen microscópico

La tinción de Gram de extensiones obtenidas del producto puede ser muy útil, sobre todo en los casos de meningitis. El LCR sale a presión y es purulento (1.000 a 3.000 leucocitos/mm^3, con elevado porcentaje de monocitos). A pesar de esto, es conveniente partir del sedimento tras ser centrifugado. Las características morfológicas y tintoriales del germen ya han sido señaladas.

Para la detección rápida del bacilo en los productos patológicos se preconizan las técnicas de inmunofluorescencia directa, que no permiten un diagnóstico de certeza y, por lo tanto, no ahorran el cultivo, y la inoculación experimental, pese a su inespecificidad. También se ha empleado un suero antifago (L 11/16) fluorescente, para la identificación.

Aislamiento y cultivo

Es aerobio y microaerófilo. La temperatura óptima es de 37 °C (+ 3 y 45 °C) y el pH óptimo, de 7,2-7,4, aunque puede desarrollarse entre 5,6 y 9,6. Crece bien en medios ordinarios, pero se desarrolla mejor en los enriquecidos y en atmósferas del 10 % de CO_2. Aunque lentamente, puede crecer a una temperatura a 4 °C, propiedad que se aprovecha como carácter selectivo.

En agar-triptosa (medio idóneo por su transparencia y claridad), a las 24 horas da lugar a colonias pequeñas de 0,5 a 1 mm de diámetro, redondas, convexas, lisas y translúcidas, que después se vuelven grisáceas y opacas. Observadas con lupa binocular y luz oblicua (técnica de Henry) presentan una coloración azulverdosa. En fase R son más anchas, aplanadas y rugosas.

En agar-sangre da lugar a pequeñas colonias hemolíticas, grises y en gota de rocío. Esta hemólisis es evidente en las cepas recientemente aisladas, pero puede atenuarse o desaparecer en sucesivas resiembras. En agar-sangre-telurito de potasio, las colonias son negras, al igual que en la mayoría de las corinebacterias.

Existen medios sintéticos con riboflavina, biotina, tiamina, ácido nicotínico, aminoácidos, sales y glucosa, y medios selectivos con ácido nalidíxico y acetato de talio, o con 40 µg/ml de ácido oxolínico, que proporciona mejores resultados que el anterior. También son selectivos los medios con cera de abejas incorporada, los medios con polimixina B y el medio de McBride.

En la membrana corioalantoidea del embrión de pollo, a las 48 horas de la inoculación, se multiplica con lesiones necróticas características de las que se aísla fácilmente el germen.

Tabla 32-2. Diferencias entre L. monocytogenes y Erysipelothrix rhusiopathiae

	Listeria monocytogenes	*Erysipelothrix rhusiopathiae*
Movilidad a 22 °C	+	−
Hemólisis total	+	−
Catalasa	+	−
Esculina	+	−
Ureasa	−	±
SH_2	−	+
Aglutinación por suero antilisteria	+	−
Test de Antón	+	−

Identificación

La bacteria se identifica por su aspecto microscópico, tintorial, propiedades de cultivo y bioquímicas, serotipia y lisotipia, poder patógeno experimental (ratón, conejo, cobayo), test de Antón, etc. Posee una fosfatasa alcalina y parece existir relación directa entre ésta y la virulencia del germen.

Hidroliza el Tween, y algunas cepas producen una fosfomonoesterasa que ocasiona opacidad en los medios de cultivo con huevo. Posee catalasa y β-galactosidasa, pero hasta el momento presente no han podido ponerse en evidencia coagulasa, oxidasa, fenil-alanina-desaminasa, tributirinasa, lecitinasa, ureasa, arginina-deshidrolasa y descarboxilasa (de ornitina, lisina, ácido glutámico y arginina). El microorganismo no es proteolítico y no licua el huevo ni el suero coagulado. Fermenta, con producción de ácidos y no de gases a las 24 horas, la glucosa, levulosa, maltosa, ramnosa, salicina, trehalosa y esculina.

A partir de cultivos de diferentes cepas de *L. monocytogenes* se han aislado bacteriófagos activos. En el momento actual se conocen al menos 18 fagos diferentes y la lisotipia ha revelado 8 grupos fágicos (8 lisotipos). Los lisotipos, de importancia considerable en las investigaciones epidemiológicas, no presentan ninguna relación con el origen animal ni con la distribución geográfica. Se han aislado 6 grupos de bacteriocinas, monocinas (A-F) que son activas sobre *Listeria, Bacillus cereus* y *Micrococcus*.

El diagnóstico diferencial puede plantearse con otras bacterias no esporuladas grampositivas, sobre todo corinebacterias y el bacilo del mal rojo del cerdo (tabla 32-2). El estudio de las quinonas isoprénicas sólo está al alcance de laboratorios muy especializados.

Diagnóstico indirecto

Reacciones serológicas

Aglutinación. Las aglutinaciones O y H son detectadas por serodiagnóstico. Los títulos de 1/160 y 1/320 suelen con-

siderarse significativos, aunque tiene más valor la elevación del título de aglutininas en dos muestras de suero tomadas con 2 semanas de intervalo.

La interpretación de los resultados resulta, sin embargo, difícil en razón de las comunidades antigénicas con otras bacterias.

Otras reacciones serológicas:

1. *Reacción de fijación del complemento.* Es menos sensible, pero más específica. Títulos de 1/10 son ya significativos.
2. *Reacción de precipitación.* Se considera muy específica para la detección de anticuerpos antilisteria, pero es poco utilizada en la práctica.

Se han propuesto también la hemaglutinación indirecta, la inmunofluorescencia, el test de aglutinación, inmovilización, etc. Sin embargo, hasta el momento presente, la serología no aporta más que una ayuda mínima, ya que la aparición de anticuerpos humorales es de una inconstancia desconcertante. Pacientes con una forma clínica grave, bacteriológicamente confirmada, pueden no presentar reacción serológica. La situación inversa es igualmente posible.

Reacción a la listerina

Apoyándose en las dificultades que plantea el diagnóstico serológico, se ha intentado valorar el estado de la inmunidad celular mediante el test de alergia cutánea por intradermorreacción con un alergeno específico (extracto de un cultivo de *L. monocytogenes*). Pese a los resultados prometedores, esta prueba no se ha introducido en la práctica corriente.

El diagnóstico diferencial de las infecciones por *L. monocytogenes* con otras infecciones deberá plantearse en las siguientes situaciones: infecciones del embarazo (gripe, pielonefritis, aborto séptico), granulomatosis infantiséptica (sepsis neonatal, meningitis neonatal por enterobacterias o estreptococos del grupo B, sepsis de origen desconocido), meningoencefalitis (encefalopatía metabólica, infección por *S. pneumoniae, Haemophilus, N. meningitidis*), etc.

TRATAMIENTO

Es sensible *in vitro* a penicilina, ampicilina, eritromicina, tetraciclina, cloranfenicol y gentamicina. Los resultados clínicos obtenidos parecen indicar que los antibióticos de elección son penicilina o ampicilina y el de segunda elección, la eritromicina. Para el tratamiento de los cuadros de meningoencefalitis puede emplearse el cloranfenicol, y en inmunodeprimidos debe asociarse un aminoglicósido a la penicilina.

EPIDEMIOLOGIA

La listeriosis humana está ampliamente extendida por los cinco continentes y en los últimos años ha aumentado el número de casos notificados. Se trata de una antropozoonosis esporádica, que puede dar lugar a brotes epidémicos y en la cual la infección es la regla y la enfermedad, la excepción.

Reservorio

Es fundamentalmente animal y se conocen hasta el momento unas 40 especies domésticas y salvajes: mamíferos (rumiantes, equinos, felinos, roedores, etc.), pájaros e incluso peces. Parece ser que los ovinos son los afectados más frecuentemente. Estos animales padecen la enfermedad con formas clínicas variadas, pero asimismo se ha aislado el germen de animales portadores a partir de sus fosas nasales o de las heces, en carneros, bovinos, cerdos, etc.

También se ha aislado *L. monocytogenes* a partir de ratones capturados en granjas, donde existían animales con listeriosis, lo cual sugiere la intervención de los roedores en la cadena epidemiológica.

Mecanismo de transmisión

Directo de animal a hombre

El hombre se contamina por contacto con animales enfermos o portadores de gérmenes. Se trata de sujetos profesionalmente expuestos: obreros agrícolas que manipulan restos de abortos, veterinarios, empleados de mataderos, etc.

Indirecto de animal a hombre por alimentos

Por carne, leche cruda o mal pasteurizada, huevos procedentes de animales infectados, etc. Sin embargo, en la mayoría de casos, la búsqueda de la bacteria en estos productos animales es negativa.

Indirecto de reservorio telúrico a hombre

La vía de entrada sería la respiratoria por inhalación del polvo contaminado. Apoya esta teoría el hecho de que experimentalmente este tipo de inoculación da los resultados más constantes en los animales de laboratorio.

Contagio interhumano

Es raro, pero existe. Puede ser directo (en las formas congénitas por transmisión de la madre al feto) o por contacto del sujeto con un enfermo o portador. Se apunta incluso la transmisión venérea, habida cuenta de la frecuencia con que se aísla *L. monocytogenes* a partir de la uretra masculina y vagina femenina.

Afecta a los individuos de edades extremas, recién nacidos y personas mayores de 50 años, y es muy raro en las personas jóvenes o adolescentes y niños con edad superior a 1 mes. Es más frecuente en embarazadas y en presencia de factores debilitantes, como leucemias, mieloma, neoplasias, diabetes, lupus eritematoso diseminado, tratamiento con antibióticos de amplio espectro, corticoides e inmunosupresores, irradiaciones y afecciones hepáticas.

La profilaxis exige una cooperación estrecha entre los servicios médicos y veterinarios, si bien, por las lagunas existentes y no disponerse de medidas estandarizadas, no tiene objeto la profilaxis sistémica. Acaso, la ampicilina puede utilizarse en situaciones de riesgo muy comprometidas.

Erysipelothrix rhusiopathiae

Es un bacilo grampositivo débil, saprofito del suelo y agua, que produce el «mal rojo» del cerdo, pero que también puede encontrarse en carneros, múridos, aves e incluso peces.

El hombre adquiere la enfermedad «erisipeloide» por contacto al penetrar la bacteria a través de pequeñas soluciones de continuidad de la piel. Produce una erupción cutánea, eritematosa, pruriginosa y dolorosa que se localiza fundamentalmente en las manos. Las lesiones presentan bordes bien delimitados que se extienden por la periferia y aclaran por el centro. Es una enfermedad no febril, leve y con frecuencia, recidivante. Excepcionalmente puede producir una septicemia mortal.

El tratamiento con penicilina a grandes dosis se revela muy eficaz.

BIBLIOGRAFIA

Audurier, A.; Rocourt, J. y Courtieu, A. L.: Isolement et caractérisation de bactériophages de *Listeria monocytogenes*. Ann. Microbiol. (Paris), 128A, 185-198, 1977.

Barksdale, L. Diphtheria bacilli and other corynebacteria. En Braude, A. I.; Davis, Ch. E., y Fierer, J. (dirs.): Medical Microbiology and Infectious Diseases. W. B. Saunders, Philadelphia, 295-306, 1981 y 254-263, 1986.

Boyd, R. F.; Marr, J. J.: *Corynebacterium diphtheriae*. En Medical Microbiology, 336-343. Little, Brown, Boston, 1980.

Collier, R. J.: Diphtheria toxin: Mode of action and structure. Bacteriol. Rev., 39, 54-85, 1975.

Coyle, M. B.; Hollis, D. G., y Groman, N. B.: *Corynebacterium* spp. and other coryneform organisms. En Lennette, E. H. (dir.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed., 193-201. American Society for Microbiology, Washington, 1985.

Davis, B. D.: Corynebacteria. En Davis, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Jawetz, E.; Melnic, J. L., y Adelberg, E. A.: Corynebacteria. En Manual de microbiología médica, 207-210. El Manual Moderno, México, 1981.

McCloskey, R. V.: Corynebacterium diphtheriae. En Mandell G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 1620-1626. Wiley, Philadelphia, 1979.

McCloskey, R. V.: Diphtheria. En Sanford, J. P., y Luby, J. P. (dirs.): Infectious Diseases, 214-222. Grune and Stratton, New York, 1981.

Moehring, T. J., y Moehring, J. M.: Interaction of diphtheriae toxin and its active subunit, fragment A, with toxin-sensitive and toxinresistant cells. Infect. Immun., 13 1426-1432, 1976.

Piédrola-Angulo, G., y Calbo Torrecilla, F.: Difteria. En Medicina preventiva y social, higiene y sanidad ambiental, tomo 1, 564-569. Amaro, Madrid, 1980.

Siegel, J. D., y Nelson, J. D.: Listeriosis. En Sanford, J. P., y Luby, J. P. (dirs.): Infectious Diseases, 222-225. Grune and Stratton, New York, 1981.

Volk, W. A.: *Corynebacterium* and *Listeria*. En Essentials of Medical Microbiology. J. B. Lippincott, Philadelphia, 1978.

Weis, J., y Seeliger, H. P. R.: Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. J. Appl. Microbiol., 30, 29-32, 1975.

Wilkinson, B. J., y Jones, D.: A numerical taxonomy survey of *Listeria* and related bacteria. J. Gen. Microbiol., 98, 399-421, 1977.

Willet, H. P.: *Listeria, Erysipelothrix* and *Corynebacterium*. En Joklik, W. K.; Willet, H. P., y Amos, D. B. (dirs.): Zinsser Microbiology, 17.ª ed., 626-648. Appleton-Century-Crofts, New York, 1980.

Capítulo 33

Bacillus

Gonzalo Piédrola-Angulo

La familia *Bacillaceae* está formada por microorganismos esféricos o bacilares esporulados, no productores de micelios, la mayoría claramente grampositivos, dotados o no de cápsula, móviles o inmóviles y aerobios, anaerobios facultativos o anaerobios. Se distinguen cinco géneros:

Género Bacillus. Bacilos aerobios o anaerobios facultativos, habitualmente dotados de catalasa. Su esporo deforma o no el soma bacteriano según la especie de que se trate. La mayoría de sus variedades son saprofitas del suelo, aire, agua o plantas, con dos excepciones importantes: *Bacillus anthracis* y *Bacillus cereus*, que sí tienen importancia en patología infecciosa humana.

Género Sporolactobacillus. Bacilos microaerófilos, no productores de catalasa. Sin interés en patología humana.

Género Clostridium. Bacilos fundamentalmente anaerobios. Su esporo deforma el soma celular. La mayoría de sus miembros son saprofitos del suelo y se localizan también con frecuencia en el tubo digestivo del hombre y de los animales. No tienen capacidad invasiva, pero sus potentes exotoxinas pueden originar cuadros muy graves, como tétanos, gangrena gaseosa, botulismo, etc.

Género Desulfotomaculum. Bacilos anaerobios. No se han descrito procesos humanos causados por estos microorganismos.

Género Sporosarcina. Cocos agrupados en tétradas o paquetes irregulares. Sin interés humano.

GENERO BACILLUS

Concepto. El genéro *Bacillus* está constituido por bacilos de 1,2 a 7 μm de longitud y 0,3 a 2,2 μm de anchura, la mayoría móviles; grampositivos, si bien en alguna fase de su crecimiento pueden aparecer como grampositivos débiles o gramnegativos; provistos de esporo habitualmente no deformante; aerobios estrictos o anaerobios facultativos; quimiorganotrofos; su C + G en las cepas examinadas es de 32-62 mol %.

Clasificación. Se han descrito 42 especies distintas del género *Bacillus*. De ellas, sólo 2, *B. anthracis* y *B. cereus*, tienen interés en patología humana; las demás son saprofitas del suelo, aire, agua o plantas e incluso comensales del hombre o animales, pero sin poder patógeno humano demostrado. A modo de ejemplo citaremos *B. subtilis*, *B. polymixa*, *B. coagulans*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. macerans*, *B. circulans*, *B. stearothermophilus*.

BACILLUS ANTHRACIS

Este microorganismo pertenece, de acuerdo con lo que hemos indicado, al orden *Eubacteriales*, familia *Bacillaceae* y género *Bacillus*. Se trata de un bacilo, de 3 a 8 μm de longitud y de 1 a 2 μm de anchura, recto y de extremos cortados en ángulo recto. Cuando proviene de productos patológicos, se presenta aislado, en parejas o en cadenas cortas, con una cápsula que suele rodear varios elementos. Cuando proviene de un medio de cultivo, las cadenas son más largas y asemejan una caña de bambú; se observa la cápsula en medios especiales. Es grampositivo, inmóvil y esporulado sólo en cultivos relativamente viejos, en el suelo y en los restos de animales infectados. Estos esporos esféricos u ovales tienen una situación central o subterminal y no deforman el soma bacteriano. Es aerobio estricto, con una temperatura óptima de 36-37 °C, a pH 7,4. Crece bien en medios comunes.

Estructura antigénica y toxinogénesis

Tres antígenos de *B. anthracis* han sido identificados en el laboratorio.

Antígeno capsular. La cápsula de *B. anthracis* se detecta sólo en los productos patológicos o en medios de cultivos recientes, enriquecidos con suero o sangre, especialmente humana. Puede envolver un solo bacilo, aunque lo más corriente es que rodee varios. Es espesa, hialina, de estructura polipeptídica y constituida por unidades repetitivas de ácido D-glutámico. Su peso molecular es de 7.500 y comprende tres capas: externa, media e interna. Este antígeno proteico se comporta como un hapteno y reacciona *in vitro* con anticuerpos precipitantes, si bien no induce la aparición de anticuerpos anticapsulares protectores, los cuales sólo se han demostrado en el ratón.

Antígeno polisacárido, somático profundo. No es tóxico. Está formado por dos fracciones: un factor A, constituido por galactosa que se une a la N-acetilglucosamina, y un factor B, de naturaleza química compleja. Este antígeno polisacárido es el responsable de la termoprecipitación de Ascoli.

Exotoxina proteica. Es excretada por la célula bacteriana y por cromatografía y ultracentrifugación permite la separación de tres factores: factor edematógeno, antígeno protector y factor letal (v. pág. 180). Por separado, cada uno de ellos es poco activo, pero en conjunto son muy tóxicos e inmunógenos, induciendo la aparición de anticuerpos protectores. El mecanismo de acción íntimo de cada uno de estos factores no ha sido definido de forma clara y, si bien, como cualquier exotoxina, su acción es neutralizada por el suero anticarbuncoso, en ciertos aspectos recuerda en mucho las endotoxinas de los bacilos gramnegativos.

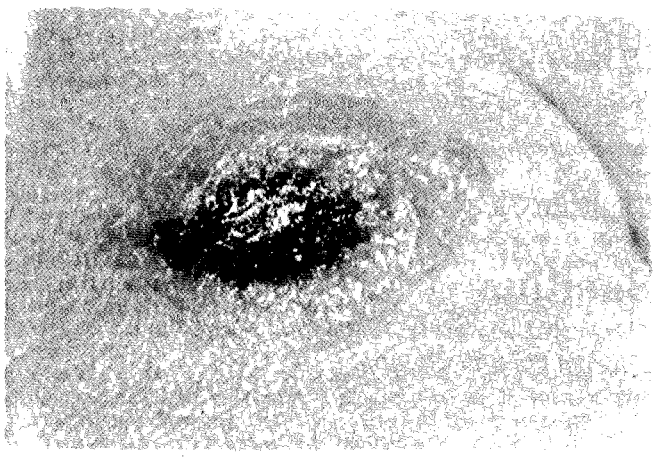


Fig. 33-1. Escara negra característica de la pústula maligna o carbunco cutáneo.

Acción patógena

La virulencia de *B. anthracis* va ligada a la cápsula, que es claramente antifagocitaria, y las cepas no capsuladas son avirulentas. Por otra parte, las sustancias tóxicas son elaboradas *in vivo* y deben contribuir como factores de patogenicidad. Sin embargo, muchos puntos quedan aún sin dilucidar para explicar de una forma clara la acción patógena de estos microorganismos.

Los cuadros patológicos pueden aparecer en los animales y en el hombre.

Carbunco animal

Afecta fundamentalmente a carneros, cabras, bóvidos, caballos y cerdos, pero también a roedores pequeños (visón y ratón). El carnero es el animal más sensible. El cuadro se produce tras la ingestión de esporos en campos contaminados (eran conocidos en la antigüedad como «campos malditos»). Adopta la forma de una enfermedad infecciosa aguda, muy febril y con adenopatías, esplenomegalia y síndrome hemorrágico. La muerte sobreviene por septicemia en algunos días y el aspecto de la sangre es negruzca, pegajosa e incoagulable.

El hombre se infecta por contacto con animales enfermos y sus despojos, a partir del suelo contaminado, incluso a través de artrópodos y por ingesta o inhalación del material infectado.

Carbunco humano

En el hombre, el carbunco puede adoptar distintos tipos clínicos, en general relacionados con el trabajo que realice.

Formas externas. Son las contraídas por vía cutánea.

Pústula maligna. Es la forma más habitual de presentación del carbunco humano. Se localiza en el mismo punto de inoculación, y su frecuencia es mayor en la cara, cabeza y miembros superiores. Suele tratarse de una lesión única.

El período de incubación es corto, generalmente de 2 ó 3 días; a veces, este tiempo puede ser mayor, pero rara vez sobrepasa los 15 días. El proceso se inicia en forma de una pápula eritematosa que se transforma en una vesícula pruriginosa, que el propio enfermo erosiona al rascarse. La pequeña erosión se seca y se va tornando amarillenta y luego ennegrece de forma progresiva hasta tomar el aspecto de una escara negra por un proceso de necrosis (fig. 33-1). Hacia el tercer día, la escara aparece seca, deprimida y negra o rodeada de un borde rojo e indurado, sobre el que se diferencian una serie de vesículas periféricas, y envuelto, a su vez, por un edema discreto. Todo el conjunto es indoloro.

Sin un tratamiento adecuado, la escara progresa, sobrepasa los bordes y las vesículas, y cesa su avance hacia el 4.º-6.º día, al mismo tiempo que se intensifica el proceso edematoso, que es claramente deformante y que va extendiendo en superficie y profundidad.

La evolución del proceso es variable:

1. Benigna, con curación sin llegar a la aparición del edema, lo cual es más frecuente bajo un tratamiento precoz.
2. Grave, en ausencia de tratamiento, por una virulencia especial del microorganismo o una alteración previa del estado general. En estos casos, hacia el 4.º día, la temperatura se eleva a 40 °C y aparecen vómitos, diarreas fétidas, oliguria, etc. Bruscamente puede aparecer un colapso con hipotensión, sudoración profusa, etc., y producirse la muerte en el curso de algunas horas, con el enfermo en pleno conocimiento, bajo una septicemia intensa.

Ciertas localizaciones comportan una especial gravedad: la pústula cervical va acompañada a veces de asfixia por edema de glotis o se complica con un edema gelatinoso mediastínico; la localización palpebral puede originar una trombosis de los senos cavernosos; también revisten particular gravedad, con un pronóstico severo, las localizaciones en la nuca.

Una superinfección puede, en cualquier caso, provocar una supuración local abundante y a veces hasta un cuadro gangrenoso.

Edema maligno. Es más raro que la pústula maligna y es la consecuencia, en general, de unas bajas defensas. Su pronóstico es muy grave. La localización palpebral es la más frecuente. Algunas horas después de la inoculación aparece un edema invasivo y pruriginoso sin escara central; cuando ésta aparece, lo hace en las flictenas antes de que se abran.

El edema se extiende rápidamente, los párpados se hacen enormes y progresivamente se afecta toda la cara, cuello, lengua, tórax, etc. La evolución favorable es excepcional, ya que lo habitual es la gravedad del cuadro, con afectación notable del estado general, hemocultivos positivos e hiperleucocitosis, todo lo cual indica una infección de intensa gravedad.

Formas internas. Suelen presentarse de forma rara en el hombre.

Carbunco pulmonar. Se produce a consecuencia de la inhalación de material contaminado. Durante 2 ó 3 días, diversos signos generales preceden a la aparición de fenómenos respiratorios del tipo de una neumonía grave: disnea, tos, expectoración viscosa y amarillenta, congestión pulmonar y reacción pleural. Con frecuencia aparece glomerulonefritis tóxica y septicemia. Su mortalidad es elevada (alrededor del 75 %).

Carbunco intestinal. Se produce por ingestión de alimentos o medicamentos contaminados con esporos de *B. anthracis*. Tras una incubación de 3 a 5 días y la presentación de discretos pródromos, aparecen fiebre, anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, dolores abdominales difusos o localizados en fosa iliaca derecha, ascitis, etc. Sin tratamiento, la ascitis se incrementa, los dolores se intensifican y aparece una diarrea que es más profusa y sobre todo sanguinolenta. Las hematemesis son frecuentes y la muerte sobreviene por colapso cardiovascular.

El carbunco intestinal puede ir acompañado de manifestaciones cutáneas, pleuropulmonares o meníngeas.

A veces, la evolución puede ser espontánea a la curación, la cual puede sobrevenir en 10 a 15 días.

Carbunco faríngeo. Es una forma de presentación muy rara y suele afectar una sola amígdala. Tras los signos locales, el carbunco se generaliza y produce manifestaciones intestinales.

Carbunco nervioso y septicémico. Suelen ser formas terminales de las diversas localizaciones. Se han descrito parálisis ascendente, hemorragias meníngeas, meningitis, meningoencefalitis, etc. En casos excepcionales, la meningitis carbuncosa puede aparecer con carácter primario.

Patogenia

B. anthracis es un microorganismo esporulado, si bien el esporo no se observa en los productos patológicos; puede detectarse en los cultivos viejos, en el suelo y en los restos de animales muertos, etc. Su hábitat natural es el suelo, de ahí que deba considerarse saprofito, pero con carácter de patógeno oportunista y parásito facultativo.

La infección de los animales suele depender de los esporos, y las vías de infección dependerán de que los animales sean alimentados en establos o acudan a pastizales. En los animales en apacentamiento, probablemente ocurra la infección con más frecuencia a través de soluciones de continuidad en la piel (muchas causadas por picaduras de insectos), las cuales toman contacto con el suelo, polvo o agua contaminados con esporos. La infección ocurre con menos frecuencia después de ingestión o inhalación de forraje contaminado y polvo. El microorganismo, por otro lado, no es capaz de perpetuarse en la naturaleza en el interior de huéspedes animales.

Mientras que las formas vegetativas poseen la resistencia usual de las bacterias no esporuladas y se destruyen por calentamiento a 56 °C durante 30 minutos y por el fenol al 0,5 % o el formol al 2 ‰, las formas esporuladas, por el contrario, son muy resistentes a los agentes físicos y químicos, de ahí que persistan vivas durante mucho tiempo en los productos derivados de animales (pieles, cueros, pelos) o en el terreno donde pastaron y murieron animales carbuncosos, y pueden dispersarse a distancia de su punto original. La persistencia prolongada en el suelo depende de ciclos periódicos irregulares de germinación de esporos, crecimiento vegetativo y reesporulación provocada por el microambiente. La formación de esporos está, de esta forma, favorecida por la disminución de calcio, temperaturas diarias mínimas superiores a 10 °C, humedad del 80 %, un ambiente claramente aerobio, etc. Por el contrario, la glucosa interfiere en la formación del esporo.

Los esporos de *B. anthracis* penetran en el organismo por vía cutánea, digestiva o aérea y son englobados por los macrófagos, pero sin destruirlos. Luego ocurre la germinación para producir formas vegetativas que escapan y se multiplican extracelularmente, provocando un edema gelatinoso y congestión tisular. Después de la infección cutánea, algunos microorganismos vegetativos llegan probablemente a los ganglios linfáticos de drenaje, pero tan sólo en ocasiones (20 % de los casos) escapan hasta la sangre en número suficiente para producir la septicemia y muerte. En la enfermedad general, los microorganismos suelen quedar restringidos a los vasos sanguíneos y linfáticos, pero raramente llegan al sistema nervioso central. En el momento de la muerte los bacilos pueden alcanzar un gran número, de modo que los capilares sanguíneos, especialmente vísceras, se hallan repletos y ocluidos por ellos. La toxina refuerza la acción antifagocitaria de la cápsula, pero no está claro su nivel de actuación para producir edema, hemorragias, necrosis local, hemoconcentración, insuficiencia renal y respiratoria, y anoxia extrema, que aparecen según las formas clínicas.

La infección por *B. anthracis* induce la aparición de una inmunidad permanente en el hombre y los animales. Los factores de virulencia de la mayor parte de las bacterias son inmunógenos eficaces y, en teoría, la inmunidad adquirida al carbunco debe implicar los efectos combinados de anticuerpos anticapsulares y antitóxicos. Sin embargo, la protección del anticuerpo capsular se ha demostrado tan sólo en el ratón. Por el contrario, se demuestra fácilmente el papel de la antitoxina en la protección contra el proceso infeccioso bloqueando los efectos antifagocitarios y antitóxicos. El hecho de que la infección natural y ciertas vacunas vivas induzcan inmunidad más intensa que los preparados de toxina sugiere la existencia de inmunógenos importantes, además de la toxina.

Diagnóstico bacteriológico

Humano

Directo. *Toma de la muestra.* Se efectuará a partir de la pústula, levantando la escara y recogiendo la serosidad, o de las vesículas edematosas por punción. En las formas pulmonares, la toma se efectuará a partir de la expectoración y en las intestinales, muy raras, a partir de los ganglios me-

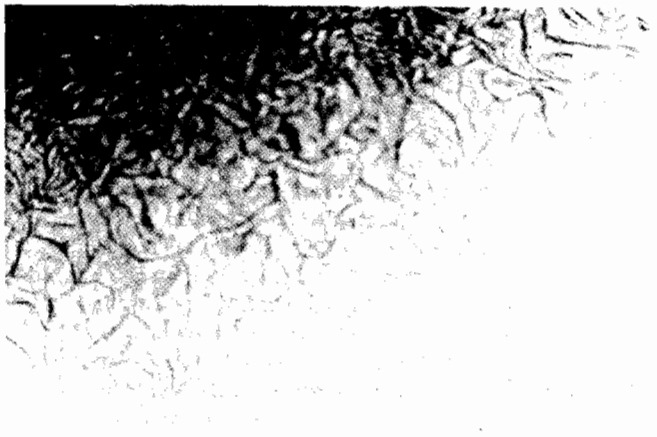


Fig. 33-2. Periferia de una colonia de *Bacillus anthracis*. Típico aspecto en «melena de león».

sentéricos, ya que lo alarmante del cuadro induce a realizar una intervención quirúrgica en la mayoría de los casos. En todos los casos se procederá a realizar un hemocultivo por la posible existencia de una septicemia.

Examen directo. El examen en fresco revelará la existencia de bacilos inmóviles. El examen de las extensiones del producto patológico mediante la tinción de Gram mostrará la presencia de bacilos grandes, grampositivos, con los bordes cortados en escuadra. Los bacilos aparecerán capsulados, con una cápsula que generalmente rodea varios elementos y puede ponerse de manifiesto por la técnica de la tinta china. Efectuadas las tinciones de esporos, no podrá detectarse dicho elemento. Incluso, en algunos casos, puede intentarse una inmunofluorescencia directa. Todos estos datos son fuertemente presuntivos, insuficientes para un diagnóstico definitivo, pero suficientes para comenzar un tratamiento inmediato, dada la gravedad del cuadro.

Cultivos. Son bacterias aerobias estrictas (raramente anaerobias facultativas), que crecen bien en los medios usuales a una temperatura de 36 °C y a un pH óptimo de 7-7,4.

1. Caldo común. En pocas horas aparecen unos copos blanquecinos formados por largas cadenas de bacilos que terminan por sedimentar. Las cadenas, como ocurre en los medios de cultivo, son más largas que cuando se observan en los productos patológicos y recuerdan el aspecto de una «caña de bambú». A las 48 horas puede efectuarse una tinción de esporos del sedimento y observarse la existencia de este elemento generalmente en situación central y sin deformar el soma bacteriano.

2. Agar común. A las 24 horas pueden observarse colonias elevadas, amarillogrisáceas, opacas, de superficie irregular (tipo R), de 2-4 mm de diámetro y con proyecciones en forma de rizos alrededor de la colonia, lo que le da el aspecto de «cabeza de medusa» o «melena de león» (fig. 33-2). Estos rizos están constituidos por largas cadenas de bacilos, que se pueden apreciar fácilmente por una coloración de impresión. Esta técnica consiste en depositar sobre la colonia un portaobjetos, presionar ligeramente, retirarlo, fijarlo y colorearlo. Por observación microscópica podrán verse las típicas cadenas bacilares. Otra forma de visualizarlos es dejar caer unas gotas de violeta de genciana o cristal violeta sobre la colonia, escurrir el exceso y observarlas con lupa, con lo que se ven muy bien los filamentos.

3. Agar-sangre. El aspecto de las colonias es el típico y sobre todo puede obtenerse un dato fundamental: la no hemólisis.

4. Capsulogénesis. La cápsula puede observarse en medios con suero o sangre, o mejor en agar-bicarbonato incubado en una atmósfera del 10 % de CO_2. Las colonias aparecen en este último lisas, mucosas y adherentes, formadas por largas cadenas de bacilos encapsulados. La observación tras tinción con anticuerpos fluorescentes anticapsulares es muy útil, a partir del cultivo en agar-bicarbonato.

5. Esporogénesis. El esporo puede observarse por las técnicas usuales a partir de cultivos viejos. Conviene recordar que la esporulación se efectúa bien entre 20 y 30 °C en presencia de oxígeno y que es inhibida a una temperatura superior a 42 °C. En los medios de cultivo, su aparición es muy variable, entre 10 horas y 4 días. Los esporos serán ovales, generalmente centrales y no deformantes.

Identificación. El mayor problema de la identificación de *B. anthracis* radica en establecer las diferencias con otros gérmenes saprofitos, muy similares, aerobios, pertenecientes al mismo género y que son denominados comúnmente como *anthracoides* (no es una especie, sino un conjunto de especies) y en los que se incluye, entre otros, *B. cereus*.

Primero, debe efectuarse el diagnóstico de género, para lo cual de una forma simplificada puede recurrirse a cuatro pruebas fundamentales: movilidad, formación de esporos, catalasa y crecimiento en aerobiosis, lo que de acuerdo con la tabla 33-1 establecerá el diagnóstico diferencial con microorganismos afines. Posteriormente, se procederá a la diferenciación entre *B. anthracis* y los antracoides según la tabla 33-2.

Inoculación experimental. Confirmará plenamente el diagnóstico anterior y con ella se obtendrá la absoluta seguridad de diagnóstico diferencial entre *B. anthracis* y los antracoides. El animal de elección es el cobayo. Se inocula por vía subcutánea o intraperitoneal, con el producto patológico o el material del cultivo. Si se inocula con el produc-

Tabla 33-1. Diagnóstico de género en bacilos grampositivos

Géneros	Movilidad	Esporos	Catalasa	Aerobiosis	Otras pruebas de interés
Bacillus spp.	Variable	+	+	+	
Clostridium spp.	Variable	+	−	−	
Corynebacterium, Rothia	−	−	+	+	Voges-Proskauer
Erysipelothrix, Lactobacillus	−	−	−	+	Maltosa
Actinomyces	−	−	−	−	
Propionibacterium	−	−	+	−	
Listeria, Kurthia	+	−	+	+	Voges-Proskauer

to patológico, a menudo sobreinfectado, debe realizarse una inyección con suero antigangrenoso polivalente para proteger al animal frente a microorganismos anaerobios esporulados. El animal muere rápidamente en el curso de una septicemia, y se detectan las bacterias en la sangre y en los órganos donde aparecerán en cultivo puro.

Indirecto. *Serológico.* Puede realizarse una hemaglutinación en muestras dobles de suero de las personas sospechosas.

Intradermorreacción. Un estado alérgico puede detectarse por una sustancia conocida como «anthraxina». La inyección intradérmica de 0,1 ml en la cara anterior del antebrazo produce, en sujetos enfermos, convalecientes o antiguos enfermos, una reacción eritematosa, inflamatoria y con densificación dermoepidérmica de un diámetro de unos 8 mm, que se presenta a las 24 horas y persiste hasta las 48 horas. En los enfermos, la reacción es precozmente positiva (81 % en los 3 primeros días); hacia la 3.ª y 6.ª semana, el número de positividades se incrementa (97,8 %). En los convalecientes y antiguos enfermos, la reacción sigue positiva en el 82,8 % de los casos tras 4 a 15 años y en el 73,3 % después de 16 a 30 años. Esta reacción es muy específica, ya que sólo aparece positiva en menos del 2,5 % de la población sana, por lo que su utilidad práctica es importante para el diagnóstico del carbunco humano y animal con carácter de precocidad y retrospectivo.

Animal

Ante la sospecha de un animal carbuncoso pueden seguirse las mismas pautas que en el hombre. El estudio de cadáveres puede efectuarse a partir de una porción de oreja o un metatarsiano o metacarpiano (la medula ósea es rica en bacterias) y procederse a la identificación e inoculación experimental. Un método rápido, sobre todo si se trata de animales enterrados días atrás, es la termoprecipitación de Ascoli, que se efectúa a partir de un extracto de órgano carbuncoso (hígado, bazo, riñón), calentado a 100 °C durante algunos minutos y filtrado, el cual en presencia de un suero anticarbuncoso específico determina la aparición de un anillo de precipitación blanquecino en la unión de los dos líquidos, lo que traduce la presencia de antígenos carbuncosos en los órganos (antígenos somáticos polisacáridos).

Tratamiento

Seroterapia. La inyección precoz de suero anticarbuncoso de empleo clínico (o en su defecto de uso veterinario), a la dosis de 40 a 60 ml día, da buenos resultados, si bien hoy día se prefiere el empleo de antibióticos.

Antibioterapia. *In vitro, B. anthracis* es sensible a la penicilina, tetraciclina, cloranfenicol y gentamicina, entre otros.

El fármaco de elección es la penicilina, cuyos criterios de administración varían según los diversos autores. Una pauta aceptable es la administración de comienzo de 3-5 millones de unidades, pasando a las 48 horas a 3 millones cada 4 horas y reduciendo la dosis a la mitad en los 3 ó 4 días siguientes. En los casos de cepas penicilinorresistentes es preferible el empleo de los antibióticos que indique el antibiograma.

Tabla 33-2. Diagnóstico microbiológico diferencial entre B. anthracis y antracoides

	B. anthracis	Antracoides
Morfología	Extremos rectangulares	Extremos redondeados
Cápsula	+	–
Movilidad	–	+
Colonias lisas en agar-bicarbonato (CO_2)	+	–
Hemólisis en agar-sangre	–	+
Inmunofluorescencia específica	+	–
Lisis por los fagos γ, W y L7	+	–
Poder patógeno experimental	+	–

Epidemiología

El carbunco es una zoonosis transmisible al hombre. Diversos son los factores epidemiológicos que intervienen en su aparición: edad (30-40 años); sexo (mayor incidencia en el hombre que en la mujer); época del año (preferentemente en julio, agosto y septiembre); ambiente (claro predominio rural), y la profesión (se presenta sobre todo entre campesinos, pastores, carniceros y matarifes).

Reservorio y fuente de infección. El reservorio de la enfermedad comprende los diversos animales enfermos, como ovejas, carneros, cabras, vacas, caballos, etc. La fuente de infección principal son las hierbas y vegetales contaminados por los vómitos, heces, cadáveres mal enterrados, riegos por aguas infectadas procedentes, por ejemplo, de mataderos, etc. Otras fuentes de infección pueden ser las camas, pesebres, apriscos de animales enfermos, piensos, fertilizantes, etc.

Mecanismo de contagio. En el 86 % de los casos, el contagio se produce por contacto directo con animales enfermos (carniceros, matarifes, etc.); en el 6 % de los casos intervienen artrópodos como *Stomoxys calcitrans;* en el 4 %, el contagio se realiza por manipulación de animales enfermos. El hombre de esta forma puede contagiarse espontánea, accidental o profesionalmente por vía cutánea, por escoriaciones, punciones por instrumentos contaminados o picadura de la mosca de los establos que previamente ha estado depositada sobre carnes o vísceras infectadas, por vía digestiva, al ingerir carne no bien cocida o embutidos, o bien por vía respiratoria, al inhalar polvo con los esporos al manipular pieles, cueros, lanas, etc.

Profilaxis

Las medidas sanitarias deben instaurarse para prevenir el carbunco tanto en los animales como en el hombre, para lo cual hay que realizar vacunación sistemática del ganado; educación agropecuaria para interpretar los primeros síntomas; desinfección de material contaminado de las industrias de pieles, lanas y pelos, por ejemplo, con β-propiolactona; vacunación humana en los casos más expuestos; quimioprofilaxis ante un caso sospechoso; empleo de guantes, mascarillas, etc., en los manipuladores, y educación sanitaria de veterinarios, obreros del campo, matarifes, curtidores, etc.

Vacunación. La primera experiencia de vacunación anticarbuncosa animal fue realizada en 1881 por Pasteur mediante el empleo de una vacuna atenuada, preparada a partir de una cepa de virulencia atenuada por cultivo a 42,5 °C. Se utilizan dos dosis de virulencia atenuada, pero diferentes, que se inyectan a 10 días de intervalo. La inmunidad persiste 1 año.

Vacuna GA (gelosa-aluminio). Es una modificación de la anterior, a la que se le añade 2 % de agar y aluminio; se administra en una sola inyección.

Vacuna viva avirulenta. Se obtiene a partir de la cepa acapsulada $34F_2$, mediante cultivo en un medio con saponina.

Vacuna química constituida por el antígeno protector proteico purificado. Se administran dos inyecciones subcutáneas de 1 ml, separadas por 10 días. Proporciona una buena protección, de alrededor de 1 año.

OTROS BACILLUS

Dentro del grupo que hemos señalado como antracoides, de una forma práctica señalaremos la especie conocida como *B. cereus*, de la cual se distinguen tres subespecies: *B. cereus* var. *fluorescens*, *B. cereus* var. *albolactis* y *B. cereus* var. *mycoides*, que es inmóvil. Se trata de unos microorganismos próximos a *B. anthracis*, del que se diferencian, entre otras características, por su capacidad de crecer sobre agar con 10 U de penicilina y las diferencias ya señaladas anteriormente, entre las que habría que destacar su ausencia de poder patógeno experimental, salvo cuando la inoculación se efectúa a dosis altas, caso en que la lesión originada sólo aparece localizada en el punto de inoculación. Son responsables de cuadros de toxiinfecciones alimentarias.

Bacillus cereus da lugar a cuadros de intoxicaciones alimentarias por la producción de dos tipos de enterotoxinas. Una termoestable con actividad emética originaría cuadros de náuseas y vómitos, con un período de incubación corto (1-6 horas), atribuidos a la toxina preformada en alimentos como el arroz cocido o frito, que se sirve en los restaurantes chinos. Otra termolábil daría cuadros de dolor abdominal y diarrea, con un período de incubación algo más largo (10-12 horas), atribuidos a carne o salsas, que quizá fueron condimentadas con especias ricas en esporos de *B. cereus*. Además, esta bacteria ha sido asociada a cuadros clínicos graves como abscesos pulmonares e infecciones oculares, meníngeas, óseas y del endocardio. El serotipo 11/15 ha sido aislado de infecciones neonatales graves.

El diagnóstico se realiza por la demostración de *B. cereus* en alimentos o heces, en una concentración superior a 10^7 por gramo de la muestra. El cuadro de intoxicación alimentaria cura antes de las 24 horas sin tratamiento alguno o con sólo tratamiento sintomático. Para prevenirlo, los alimentos deben ser preparados higiénicamente. En el tratamiento de otras infecciones por *B. cereus*, se usarán tetraciclinas o gentamicina, pero no penicilina a la que es resistente.

Las otras especies del género suelen comportarse como no patógenas para el hombre, si bien por excepción se han descrito algunos procesos que etiológicamente podrían estar relacionados con aquéllas. Señalemos que de *B. subtilis* se obtiene la bacitracina y del *B. polymixa*, la polimixina; *B. stearotermophilus* se usa como indicador biológico de eficacia de la aplicación del autoclave; *B. pumilus* puede emplearse como indicador de la esterilización por radiaciones ionizantes y *B. subtilis*, para comprobar la efectividad del óxido de etileno.

BIBLIOGRAFIA

Barnham, M.; White, D.; Melling, J., y Gilbert, R. J.: *Bacillus cereus* infections. J. Clin. Pathol., 33, 314-315, 1980.

Feeley, J. C., y Patton, Ch. M.: *Bacillus*. En Lennette, D. H. (dir.). Microbiología clínica, 3.ª ed., 192-197. Panamericana, Buenos Aires, 1982.

Ferron, A.: Bacteriologie Médicale, 11.ª ed. Cronan et Roques, Lille, 1982.

Gibson, T., y Gordon, R. E.: En Bergey's Manual of determinative Bacteriology, 8.ª ed., 529-550. Williams and Wilkins, Co., Baltimore, 1974.

Lamb, R.: Anthrax. Br. Med. J., 1, 157-160, 1973.

Myrvik, A. N.; Pearsall, N. N., y Weiser, R. S.: Bacteriología y micología médicas. Interamericana, México, 1977.

Moustardier, G.: Bactériologie Médicale. Libraire Maloine. Paris, 1972.

Paraje, R., y Paraje, A. R.: Microbiología clínica, 2.ª ed. Panamericana, Buenos Aires, 1976.

Toma, B.: *Bacillus*. En Le Minor, L., y Veron, M. (dirs.): Bactériologie Médicale, 578-585. Flammarion, Paris, 1982.

Turnbull, P. C. B.; Jorgensen, K.; Kramer, J. M.; Gilbert, R. J., y Parry, J. M.: Severe clinical conditions associated with *Bacillus cereus* and the apparent involvement of exotoxins. J. Clin. Pathol., 32, 289-293, 1979.

Van Ness, B. B.: Ecology of anthrax. Science, 172, 1303-1307, 1971.

Williams, R. P.: *Bacillus anthracis*. En Braude, A. I.; Davis, C. E., y Fierer, J. (dirs.): Medical Microbiology and Infections diseases. W. B. Saunders, Philadelphia, 1981.

Capítulo 34

Clostridium

José Angel García-Rodríguez

El género *Clostridium*, que aparece situado dentro de la sección 13 del *Manual de Bergey*, se caracteriza en que las bacterias que lo integran son bacilos grampositivos, esporulados y anaerobios estrictos, si bien algunas cepas son microaerófilas. Los esporos redondos u ovales suelen deformar el soma bacteriano y se sitúan en posición central, subterminal o terminal. La mayor parte de las especies son móviles, merced a flagelos perítricos.

Entre las de importancia médica, la única inmóvil es *C. perfringens*, que es, además, también la única dotada de cápsula (fig. 34-1).

Los clostridios forman parte de la flora del hombre y de los animales y se encuentran ampliamente difundidos en el terreno, a causa de la alta resistencia a los agentes externos que les proporcionan los esporos. En el hombre, su «hábitat» normal es el tubo gastrointestinal y el aparato genital femenino, aunque también se les puede aislar en la boca y piel.

La amplia distribución de los clostridios en la naturaleza provoca que con elevada frecuencia contaminen heridas, pero, al carecer de poder invasivo, los casos de infecciones clínicas son escasos. Estas afecciones están condicionadas por circunstancias favorecedoras exógenas y por el huésped. El origen de los cuadros clínicos producidos por clostridios es en la mayoría de las ocasiones endógeno, pero tienen o pueden tener un origen exógeno: tétanos, botulismo, gangrena gaseosa (mionecrosis), celulitis clostridiana, toxiinfección alimentaria por *C. perfringens* y enteritis necrotizante.

Las especies más importantes, de interés clínico, ejercen su acción patógena mediante toxinas elaboradas por ellas, que en algunos casos tienen un elevadísimo poder tóxico. En general son sustancias proteicas solubles y termolábiles; unas son difusibles y se producen y liberan durante el crecimiento bacteriano, en tanto que otras se originan por lisis celular. Algunas se sintetizan como prototoxinas o toxinas progenitoras y necesitan para actuar ser activadas mediante enzimas proteolíticas exógenas o de la propia bacteria. Se han aislado hasta el momento presente más de 30 especies de *Clostridium* potencialmente patógenos para el hombre.

Por sus propiedades proteolíticas y sacarolíticas se dividen en cuatro grupos que se muestran en la tabla 34-1. En relación con los cuadros clínicos que producen, los clostridios se pueden dividir asimismo en cuatro grupos:

1. «Clostridios neurotóxicos»: *C. tetani* y *C. botulinum*.
2. «Clostridios histotóxicos». Son aquellos que producen daño en múltiples tejidos gracias a sus toxinas. Su origen suele ir ligado a la existencia de lesiones traumáticas previas. Los más importantes son *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. bifermentans* y *C. histolyticum*.
3. «Clostridios enterotóxicos»: *C. perfringens* (tipo A y C) y *C. difficile*.
4. «Clostridios piógenos». Dan lugar a cuadros purulentos, a menudo de etiología polimicrobiana. Son procesos idénticos a los producidos por otras bacterias anaerobias, con las que suelen estar asociados. En este tipo de infecciones, las toxinas no desempeñan papel patogénico alguno. Las especies aisladas más frecuentemente son *C. perfringens* y *C. ramosum*.

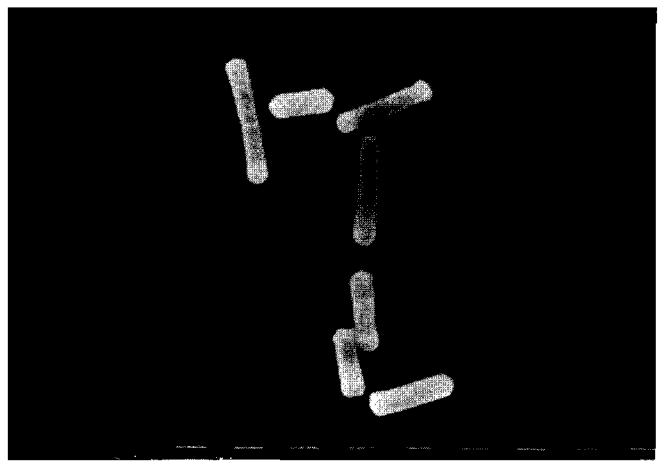


Fig. 34-1. *C. perfringens*. Microscopia electrónica (× 5.000).

Tabla 34-1. Agrupación de distintas especies de clostridios según sus propiedades sacarolíticas y proteolíticas

Sacarolíticos y proteolíticos	Proteolíticos, pero no sacarolíticos	Sacarolíticos, pero no proteolíticos	No sacarolíticos ni proteolíticos
C. sporogenes	*C. histolyticum*	*C. perfringens*	*C. cochlearium*
C. bifermentans	*C. botulinum* tipo G	*C. barati*	*C. tetani*
C. sordellii		*C. butyricum*	
C. botulinum tipo A		*C. tertium*	
C. botulinum tipo B		*C. fallax*	
C. botulinum tipo F		*C. chauvoei*	
		C. septicum	
		C. sphenoides	
		C. novyi	
		C. botulinum tipo B	
		C. botulinum tipo C	
		C. botulinum tipo D	
		C. botulinum tipo E	
		C. botulinum tipo F	
		C. cadaveris	

Clostridium tetani

CONCEPTO Y CLASIFICACION

Clostridium tetani es un bacilo grampositivo, anaerobio, fino, de 0,3-0,6 × 3-6 μm, acapsulado, esporulado y móvil. Los esporos son esféricos, terminales, y deforman el soma bacteriano, lo que le proporciona el aspecto característico en «palillo de tambor». Aunque existen cepas aflageladas, la mayoría son móviles, gracias a la posesión de flagelos perítricos. Metabólicamente muestran escasa actividad y no son proteolíticos ni sacarolíticos.

Su «hábitat» es el suelo, especialmente la tierra de cultivo, así como el intestino del hombre y de los animales. Sintetiza una potente neurotoxina, que es la responsable de un cuadro clínico agudo y específico, que se caracteriza por contractura muscular. Existen variantes no toxigénicas.

Por lo que respecta a la composición antigénica, *C. tetani* posee cinco componentes con capacidad inmunógena: el antígeno somático (O) es único y sobre esta base se puede establecer un diagnóstico por inmunofluorescencia directa. El antígeno flagelar (H), proteico y termolábil, permite clasificar el microorganismo en 10 serotipos. El antígeno esporal es único y también termolábil. La tetanospasmina o neurotoxina es idéntica para todas las cepas del germen, y la tetanolisina tiene comunidad antigénica con las hemolisinas oxígeno-lábiles producidas por otras bacterias: estreptococos, neumococos, *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. sporogenes*, etc.

ACCION PATOGENA

Patogenia

Determinantes de la patogenicidad. *C. tetani* produce tres toxinas, la tetanospasmina o toxina espasmogénica (neurotoxina responsable de todos los síntomas del tétanos), la tetanolisina, que es una hemolisina oxígeno-lábil reversible, y la «toxina no espasmogénica», de papel desconocido y cuya acción se fija principalmente en las placas motoras periféricas.

La síntesis de la tetanospasmina tiene lugar de forma preferente tras el período de crecimiento exponencial. Es una toxina citoplásmica que se libera al medio circundante por autólisis celular. No se conoce exactamente el control genético de su producción, pero los datos existentes en este momento no inducen a considerar que sea plasmídico o nuclear. La tetanospasmina es una haloproteína termolábil, con un peso molecular de 150.000 y que existe bajo dos formas moleculares diferentes, que se denominan toxina intracelular y extracelular. La intracelular está constituida por una única cadena polipeptídica, de un peso molecular de 150.000, en tanto que la extracelular consta de dos cadenas polipeptídicas diferentes, que tienen, respectivamente, un peso molecular de 100.000 (cadena pesada o β) y 50.000 (cadena ligera o α). En el momento de la liberación, la cadena peptídica de la toxina intracelular se parte en dos fragmentos peptídicos, que permanecen unidos por puentes disulfuro. Esta estructura molecular en dos fragmentos es semejante a la de las toxinas diftérica y colérica, y por ello se considera que de forma análoga, como acontece en éstas, en la toxina tetánica aparecen separados los fragmentos de unión y tóxico. Hasta el momento presente, sólo se ha comprobado que la cadena β o pesada es la que se une a los gangliósidos, por lo que, en el caso de que éstos sean los receptores de la toxina tetánica, este fragmento sería el de unión. No se conocen aún las bases moleculares del mecanismo de acción de la tetanospasmina.

Es la toxina más potente que existe tras la botulínica y la sensibilidad a ella varía con la especie; así, los animales más sensibles son el hombre y el caballo y los menos afectados, las aves y los animales de sangre fría. Un miligramo de toxina purificada tiene 2×10^8 DMM para el ratón y 130 μg son letales para el hombre.

Mecanismo patogénico. Aunque, en alguna ocasión, la infección por *C. tetani* pueda ser debida a células vegetativas, las formas infectantes habituales son los esporos. Por un lado, son difíciles de destruir, sobreviven años fuera del alcance de la luz solar, resisten al fenol y a la ebullición, e incluso permanecen vivos después de mantenerse en el

autoclave a 120 °C durante 15-20 minutos. Por otra parte son muy ubicuos y se encuentran en la luz intestinal del hombre y animales, suelo, polvo, ropas, etc.

Como el *C. tetani* carece de poder invasivo para posteriormente provocar tétanos clínico, es necesario que el microorganismo llegue a los tejidos del huésped a partir de las localizaciones citadas a través de una herida o de una úlcera cutánea. La contaminación tisular se puede producir durante laceraciones, abrasiones, heridas punzantes simples (por puntas, astillas o pinchos), cortaduras, quemaduras, congelaciones, arañazos, mordeduras, heridas penetrantes, fracturas, heridas por arma de fuego, parto, aborto séptico, úlceras necróticas (de decúbito, vasculares o diabéticas), extracciones dentarias, infecciones del oído medio, gangrena de tipo diverso, cirugía (sobre todo gastrointestinal), sección séptica del cordón umbilical, administración parenteral de fármacos, etc., o después de ellos. Aunque el riesgo de aparición del tétanos es mayor en los traumatismos sépticos externos, el cuadro se produce más a menudo en lesiones pequeñas, puesto que en aquéllos de forma habitual se ponen sistemáticamente en práctica las medidas profilácticas necesarias.

La toxina se produce por las formas vegetativas después de que el microorganismo haya germinado; para esto es necesario que, en los tejidos que contamine, se encuentren las condiciones necesarias para su germinación y multiplicación. La más importante es la existencia de un bajo potencial de óxido-reducción consecutivo a la isquemia, liberación de enzimas tisulares, la necrosis y la existencia de bacterias aerobias, que durante su desarrollo consumen el oxígeno existente.

En el foco de infección y ante la presencia de condiciones favorables, las bacterias germinan y comienzan la síntesis de tetanospasmina que liberan por autólisis. A partir de aquí, la toxina difunde bien por vía neural o humoral. En el primer caso es captada por las terminaciones nerviosas motoras y transportada por el interior de los axones de las fibras α (transporte intraaxonal retrógrado o centrípeto) y no, como se consideraba, a través de los espacios tisulares intraneurales situados fuera de los axones. A través del tronco regional motor penetra por las raíces anteriores hacia las astas anteriores de la medula espinal y se acumula en las neuronas motoras α. Hay un paso transináptico de la toxina, que puede progresar por vía anterior a niveles superiores del SNC y acontece en el tétanos local o ascendente, que es una forma experimental de tétanos que aparece cuando se inyecta la tetanospasmina por vía intramuscular. En el tétanos descendente, que es el caso de las formas clínicas que aparecen espontáneamente en el hombre y animales y de las descritas experimentalmente por inyección intravenosa de la toxina, la tetanospasmina pasa a la linfa y sangre, y a través de esta vía humoral llega al sistema nervioso central. En este caso se desconoce el mecanismo íntimo, por el que la toxina llega al SNC, aunque se considera que pudiera ser por vía intraaxonal retrógrada (la precocidad de los síntomas faciales se debería a que los nervios motores que los inervan son muy cortos) o a través del suelo del IV ventrículo en un área cercana a los núcleos de los pares craneales inferiores, lo que también explicaría la aparición precoz del *trismus* y la afectación de los músculos del cuello.

Las bases moleculares de la acción de la tetanospasmina no están aclaradas aún. Lo que sí se conoce son los lugares en que actúa y los mecanismos farmacológicos que interfieren. Actúa principalmente en los pares craneales y de la medula espinal, y también tiene actividad sobre los sistemas nerviosos simpático, neurocirculatorio y neuroendocrino. Parece ser que los gangliósidos de la membrana celular de las neuronas son los receptores de la toxina, y su capacidad para fijarla está en relación con el número y posición de los residuos de ácido siálico que posean. Los gangliósidos más activos son los que tienen dos residuos unidos por un enlace sensible a la neuraminidasa; éstos son el GD_{1b} y el GT_1.

A nivel central, la neurotoxina actúa en las sinapsis de las neuronas inhibidoras que controlan las actividades motoras del SNC, bloqueando la liberación presináptica de los neurotransmisores, glicina y ácido γ-aminobutírico. De esta forma, hay una hiperactividad de las neuronas motoras que lleva a la parálisis espástica y las convulsiones. La acción de la tetanospasmina en esta localización es muy semejante a la de la estricnina, con la diferencia de que ésta actúa a un nivel posterior a la sinapsis. También en el SNC interfiere la síntesis proteica en el cerebro.

A nivel periférico, interfiere la liberación de acetilcolina tanto en el músculo esquelético como en los músculos con nervios parasimpático-colinérgicos. También actúa sobre el sistema sarcotubular del músculo, que está implicado en el ciclo relajación-contracción.

Cuadro clínico

El período de incubación suele oscilar de 6 a 15 días, con una media de alrededor de 1 semana. Puede ser más corto o mucho más largo, incluso de meses.

En general, el tétanos puede presentarse bajo dos formas clínicas: local o generalizada. Lo importante es diagnosticarlo precozmente y, en este sentido, los signos más importantes son: calambres y contracciones de los músculos que rodean la herida considerada como «puerta de entrada», aumento de los reflejos de la extremidad dañada, rigidez de los músculos mandibulares y ligero dolor de los músculos faciales.

Tétanos local. Es un cuadro relativamente raro. La enfermedad se limita a la extremidad donde se localiza la puerta de entrada y suele aparecer en vacunados. Se caracteriza por la aparición de una rigidez persistente de los músculos cercanos a la infección, ya que la toxina se fija sólo en la zona medular que los inerva. En ocasiones puede progresar hacia la implantación de un tétanos generalizado.

Una forma particular del tétanos local es el denominado tétanos *cefálico*. Surge consecutivo a lesiones generalmente situadas en la cabeza. Tiene un período de incubación corto antes de la aparición del *trismus*. Hay disfunciones de los pares craneales, particularmente parálisis facial y disfagia.

Otra forma clínica, si bien muy rara, del tétanos local, es la *toracoabdominal*.

Tétanos generalizado. Constituye la forma clínica habitual y se presenta normalmente de forma descendente con *trismus* y afectación espástica del cuello, tronco y extremidades. Aparte los signos precoces ya señalados, el síntoma inicial más característico es el *trismus* (incapacidad para abrir la boca a causa del espasmo de la musculatura masetera), junto con la disfagia y rigidez con dolor de cuello, espalda y abdomen. El tiempo intermedio entre la aparición

del *trismus* y los espasmos se conoce como período de comienzo; si es corto, el caso suele ser grave y de mal pronóstico. El espasmo puede dar lugar a la llamada «risa sardónica» (contracción de los músculos faciales, especialmente del risorio de Santorini) o bien a opistótonos (afectación de los músculos del tronco y extremidades) o interferir en la respiración (músculos faríngeos y laríngeos). Aparecen convulsiones tónicas de forma interminente e impredecible, que son generalizadas y surgen de manera súbita, paroxística y con falta de coordinación. Los músculos quedan en una contracción tónica intensa, que puede durar de unos segundos a varios minutos. A veces, las convulsiones son tan manifiestas que producen fracturas. Aparecen espontáneamente o por estímulos externos (luz, ruidos, etc.). A causa de las convulsiones, el enfermo está agotado y dolorido. A veces hay signos de disfunción simpática, como hipertensión arterial y taquicardia. La contracción de la musculatura respiratoria puede dar lugar a la muerte por fallo respiratorio. El paciente también puede fallecer por fallo cardiaco o complicaciones pulmonares del tipo de neumonías por aspiración o embolias pulmonares.

El «tétanos *neonatorum*» es una forma particular del tétanos generalizado. Aparece en el recién nacido por contaminación del ombligo en el momento del nacimiento. Tiene un período de incubación de unos 7 días, al cabo de los cuales aparece el primer signo: la dificultad en la succión que progresa a la incapacidad. Existen convulsiones intensas, paro respiratorio y una mortalidad muy elevada.

El tétanos no da lugar a inmunidad, por lo que la enfermedad puede padecerse más de una vez, de ahí la conveniencia de vacunar también a los sujetos que la hayan padecido.

DIAGNOSTICO

Como ocurre con la gangrena gaseosa y el botulismo, el diagnóstico de tétanos debe establecerse clínicamente. En estas afecciones, la misión del laboratorio de microbiología es tan sólo la de confirmar un diagnóstico clínico ya manifiesto por la sintomatología.

Es necesario señalar que no siempre que se ve o aísla *C. tetani* de una lesión existe tétanos clínico; puede tratarse de una simple contaminación. Por otro lado, en la mayoría de las ocasiones, en las que aparece la enfermedad, no se aísla el microorganismo de la puerta de entrada, muchas veces porque es tan pequeña que ha pasado inadvertida y no se localiza o bien porque ha transcurrido bastante tiempo desde que se produjo, lo que ha permitido que la lesión se cure.

El diagnóstico bacteriológico se puede realizar por:

Visión directa. *C. tetani* es muy difícilmente visible a partir del material de la lesión inicial mediante tinción de Gram. Cuando se consigue, se ve la presencia de bacilos grampositivos o gramnegativos finos con esporos terminales, con aspecto de palillos de tambor. Se puede emplear la tinción inmunológica mediante anticuerpos fluorescentes.

Cultivo e identificación. Si se parte del material tomado a partir de la puerta de entrada, sólo se obtienen positividades en una tercera parte de casos. La técnica que hay que emplear es la misma que en otras enfermedades infecciosas ocasionadas por anaerobios. Como detalle peculiar, es preciso señalar que la mitad de la muestra obtenida se somete a un calentamiento a 80 °C durante 10 minutos antes de la siembra, con objeto de eliminar la flora acompañante.

C. tetani se identifica por: *a)* el crecimiento en velo e inhibición de este fenómeno por la adición de suero equino antitetánico; *b)* presencia de formas filamentosas en los cultivos jóvenes y de palillo de tambor a partir de medios viejos; *c)* ausencia de actividades proteolíticas y sacarolíticas en todos los aislados y producción de indol por la mayoría de las cepas; *d)* el análisis por cromatografía de gas-líquido de los productos resultantes de su metabolismo, y *e)* pruebas de inoculación animal y de protección.

TRATAMIENTO

Las medidas terapéuticas que deben ponerse en práctica, en un caso de tétanos, deben cubrir los siguientes objetivos: mantener las funciones vitales y mitigar los síntomas, neutralizar la toxina y eliminar su producción.

Medidas de sostén

Están encaminadas a mantener las funciones vitales y mitigar los síntomas clínicos hasta que la toxina fijada al sistema nervioso se haya metabolizado. Se deben realizar en una unidad de cuidados intensivos e incluyen:

1. *Cuidados respiratorios para mantener las vías aéreas permeables y evitar la anoxia.* Para ello se realiza una traqueotomía precoz y se instaura, si es necesario, respiración asistida. Para evitar las infecciones pulmonares intercurrentes, se seguirán las normas higiénicas adecuadas a este tipo de cuidados.
2. *Control de los espasmos reflejos de las convulsiones.* En este caso se ingresa al enfermo en una habitación tranquila y a oscuras para eliminarle en lo posible los estímulos auditivos y visuales y evitar someterle a exploraciones innecesarias. Se le administran tranquilizantes y miorrelajantes: el fármaco más utilizado es el diazepán, pero se pueden emplear también meprobamato y fenobarbital. En los casos más graves pueden utilizarse curarizantes, pero administrados bajo un estricto control médico. El efecto tranquilizante de algunos de estos fármacos es muy importante, pues evita la inquietud que provoca el dolor de los espasmos. Para contrarrestar la hiperactividad del sistema simpático, son útiles los bloqueantes β-adrenérgicos.
3. *Control de la nutrición y del balance hidroelectrolítico.*

Neutralización de la toxina

Se consigue con la administración de sueros o γ-globulinas antitetánicas hiperinmunes, a dosis que proporcionen niveles antitóxicos adecuados en sangre. Sólo se neutraliza la toxina circulante y la que se forma, pero no la que ha sido previamente fijada en el sistema nervioso. Si es posible, debe utilizarse la γ-globulina (inmunoglobulina) específica con objeto de evitar las reacciones de hipersensi-

bilidad (fenómenos alérgicos y enfermedad del suero) ocasionadas por el empleo del suero, y porque, además, tiene una vida media mayor. Se administra por vía intramuscular, a dosis total de 3.000 a 6.000 UI, repartidas en tres tomas distintas, pues su vida media es de unos 25 días. Si se utiliza suero, se aplican 25.000 U, repartidas al 50 % entre la vía intramuscular y la intravenosa. Además, mientras duran los síntomas, se pone una cantidad igual a la mitad de la primera dosis, como dosis de refuerzo semanal. Es necesario, antes de administrar el suero, comprobar por inyección intradérmica si el paciente es hipersensible a él.

Como la enfermedad no confiere inmunidad, una vez que el enfermo se haya recuperado, se le vacunará.

Eliminación de la fuente de producción de toxina

Se realiza desbridamiento y drenaje adecuados. De esta forma, se eliminan los tejidos muertos, los cuerpos extraños y las bacterias, y se restablece la circulación, con lo que el potencial de óxido-reducción se eleva.

La eficacia del empleo de antibióticos para erradicar *C. tetani* y la flora asociada del foco se establece con penicilina G, a razón de 10 millones por día por vía intravenosa, o como alternativa con cloranfenicol. No deben emplearse las tetraciclinas, dada la alta resistencia de los clostridios a estos fármacos. El tratamiento antimicrobiano también se utiliza para combatir las complicaciones infecciosas que pueden surgir en el curso del tétanos.

EPIDEMIOLOGIA

Como otros clostridios, *C. tetani* está muy difundido en la naturaleza. Debido a formar parte de la flora habitual del intestino del hombre y de los animales, y por su resistencia a los agentes externos, los esporos de *C. tetani* se hallan en el suelo, especialmente en el ambiente rural y en el hábitat que le rodea. Estos nichos ecológicos constituyen, pues, el reservorio de la enfermedad.

El mecanismo de transmisión se produce mediante heridas especialmente contaminadas con heces o tierra. El cuadro clínico surge sobre todo en lesiones profundas, anfractuosas y con cuerpos extraños, que proporcionan un ambiente adecuado para la multiplicación del bacilo tetánico, pero no debe olvidarse que, precisamente en las leves, que normalmente pasan inadvertidas, también puede desencadenarse un tétanos.

La población susceptible se establece en relación inversa al grado de vacunación y a la corrección con la que se realice esta práctica.

Aunque su distribución es cosmopolita, es más frecuente en los países subdesarrollados o en vías de desarrollo, por condicionamientos sociales y económicos, especialmente el tétanos *neonatorum* que constituye una causa importante de mortalidad neonatal en estas áreas geográficas.

Se trata de una enfermedad hasta cierto punto profesional, pues su incidencia es mayor en determinadas ocupaciones: agricultores, ganaderos, matarifes, basureros, barrenderos, toreros, etc.

Su aparición parece que es más frecuente en las zonas de clima cálido y húmedo.

PROFILAXIS

Debe ponerse en práctica en todos los casos en que se sospeche la contaminación de una herida por *C. tetani:* traumatismos sépticos o penetrantes, grandes quemaduras y congelaciones, gangrenas, úlceras necróticas de cualquier tipo, aborto séptico, parto sin asistencia adecuada, operaciones gastrointestinales, etc. Abarca las siguientes medidas:

Cirugía. Procedimiento muy importante que debe aplicarse lo más inmediatamente posible. Incluye limpieza de la herida, eliminación de cuerpos extraños, tejidos necrosados y coágulos, y restauración de la circulación sanguínea.

Quimioprofilaxis. En sí misma no tiene valor absoluto, se debe utilizar, como la cirugía, conjuntamente con las medidas de inmunización. Puede tener particular interés en las heridas amplias y contaminadas. El fármaco de elección es la penicilina G.

Inmunización activa. La vacunación es el único procedimiento con el que realmente podemos evitar la aparición del tétanos, pues bien aplicada produce una protección eficaz. La administración de inmunoglobulinas antitetánicas, en ocasiones, puede fallar en la prevención del tétanos, dado que sólo produce niveles eficaces de defensa durante unos 30 días. Ocasionalmente puede haber tétanos con un período de incubación mayor, y este riesgo aumenta en gran proporción con la utilización de sueros heterólogos hiperinmunes; así, la inmunidad pasiva tan prodigada actualmente no debe reemplazar la vacunación. Además, esta técnica es la más eficaz para prevenir el tétanos en las heridas leves, que constituyen una puerta de entrada importante en nuestro medio y habitualmente no son sometidas a ningún tipo de limpieza y cuidado. La eficacia de la vacunación se demuestra al comprobar cómo, a partir de 1968 en que se inició la campaña de vacunación con DTP hasta la fecha, ha disminuido progresivamente la mortalidad por tétanos y éste se produce de forma especial en grupos de edades no vacunados.

La vacuna antitetánica es simple, segura y barata. Se emplea la anatoxina, es decir, el toxoide resultante de tratar la toxina tetánica con calor y formol, según distintos procedimientos. Hay dos tipos de toxoide: soluble, simple o fluido, y absorbido o precipitado. Se prefiere este último que da una respuesta más intensa y persistente, aunque la del primero es más rápida.

La vacunación debe realizarse en cualquier época de la vida y no sólo en la infancia. Según el último calendario de vacunaciones elaborado por el Ministerio de Sanidad y Seguridad Social (1979), se recomienda iniciar la vacunación antitetánica a los 3 meses de edad y administrar las tres dosis iniciales junto con la vacuna antidiftérica y antipertusis (DTP) a los 3, 5 y 7 meses, y una dosis de recuerdo junto con el toxoide antidiftérico (DT) a los 18 meses. Se administran, además, dosis de refuerzo a los 6 y 14 años.

En el adulto, la vacunación se realiza con dos inyeciones intramusculares de toxoide absorbido, separadas por 1-6 semanas, y una dosis de recuerdo al año. Una vez conseguida la inmunización inicial, se aconseja dosis de recuerdo cada 5 a 10 años. Estas producen un incremento del título de anticuerpos en 2-3 días. La presencia de 0,01 U antitóxicas/ml es eficaz para proteger del tétanos.

Las reacciones adversas a la administración de toxoide tetánico son raras, si bien una inmunización excesiva puede ocasionar hipersensibilidad.

Inmunización pasiva. El empleo de suero heterólogo antitetánico está en desuso. En la actualidad se emplea inmunoglobulina humana antitetánica, que es una solución concentrada de antitoxina tetánica en forma de γ-globulina preparada a partir de personas hiperinmunizadas con toxoide tetánico. Se debe utilizar junto a la inmunización activa y se administra en lugares distintos y con aguja y jeringuilla diferentes. Su aplicación no debe excluir la inmunización activa ni la profilaxis quirúrgica adecuada. La utilización de 250 U protege aproximadamente durante 30 días; en heridas extensas se pueden aplicar 500 U. Su uso es indispensable en aquellos enfermos en los que por distintas circunstancias falle su sistema inmunitario y la respuesta anamnésica. En la tabla 34-2 se señalan las pautas que deben seguirse en la utilización de toxoide e inmunoglobulina humana antitetánica de acuerdo con los tipos de heridas.

Profilaxis del tétanos neonatorum. El tétanos neonatal suele aparecer en partos de madres no inmunizadas, que tienen lugar en un ambiente extrahospitalario no estéril. Surge por contaminación del muñón umbilical durante el parto o en los primeros días de vida del recién nacido. Se puede prevenir teniendo en cuenta las medidas siguientes:

1. Vacunación de las embarazadas, con administración a partir del sexto mes de dos dosis de toxoide separadas por 1 mes o con una dosis de refuerzo si estaban vacunadas.
2. Administración de inmunoglobulina humana antitetánica a los recién nacidos con partos en condiciones no estériles de madres no inmunizadas. Asimismo, se administrará a la madre globulina inmediatamente antes del parto o durante él y se iniciará la vacunación en sitio anatómico distinto del empleado para la aplicación de la γ-globulina.
3. Atención obstétrica correcta, utilizando instrumentos y materiales estériles y procurando que el personal que asista el parto tenga una formación sanitaria adecuada.
4. Evitar la contaminación del ombligo procurando su aireación para no crear condiciones de anaerobiosis que facilite la multiplicación de *C. tetani*.

Tabla 34-2. Guía para el uso profiláctico de toxoide tetánico (T) y de inmunoglobulina humana antitetánica (IGHAT)

Tipo de herida	Recomendaciones
A. Pacientes no inmunizados o con inmunización no cierta o incompleta (1 ó 2 dosis de toxoide)	
1. Heridas de bajo riesgo	Una dosis de T[a] seguida de inmunización completa, y dosis de recuerdo cada 6-10 años
2. Heridas con condiciones favorables para desarrollar tétanos	Una dosis de T[a] más de 250 a 500 U de IGHAT, seguida de inmunización completa
B. Pacientes con inmunización primaria y dosis de recuerdo, en quienes la herida se produjo dentro de los 10 años posteriores	
1. Heridas de bajo riesgo	No se necesita T
2. Heridas con condiciones favorables para desarrollar tétanos	Si han transcurrido más de 5 años desde que se administró la última dosis de T, administrar una dosis de T. Si hace menos, no es necesario
3. Heridas descuidadas más de 24 horas	Una dosis de T más 250-500 U de IGHAT
C) Pacientes con inmunización primaria, pero sin dosis de recuerdo, en quienes éstas se han aplicado en períodos superiores a los 10 años	
1. Heridas de bajo riesgo	Una dosis de T
2. Heridas con condiciones favorables para desarrollar tétanos	Una dosis de T
3. Heridas descuidadas más de 24 horas	Una dosis de T más 250-500 U de IGHAT

Modificado de R. R. Martin: *C. tetani* (tetanus). En Principles and Practice of Infectious diseases. Dirigido por Mandell, G. L.; Douglas, R. G., y Bennett, J. E. John Wiley and Sons, New York, 1979.

[a]En niños DPT.

Clostridium perfringens y otros clostridios no neurotóxicos

En este apartado se consideran aquellos gérmenes del género *Clostridium*, que, si bien son patógenos, no son tóxicos para el SNC. Las especies que se han aislado a partir de procesos clínicos humanos son aproximadamente 30 y, según su mecanismo de acción, pueden clasificarse en: enterotóxicas, piógenas e histotóxicas. En la tabla 34-3 se relacionan las más importantes.

Hasta hace pocos años, estas bacterias hacían pensar invariablemente en el síndrome de la gangrena gaseosa; hoy se sabe que son también agentes etiológicos de otros procesos menos espectaculares.

De todos estos clostridios, el de mayor trascendencia es *C. perfringens*, ya que, aparte ser la especie histotóxica más importante, provoca cuadros clínicos muy polimorfos y es, además, la especie que con mayor frecuencia se aísla a partir de productos patológicos.

Esta especie, anteriormente denominada *C. welchii*, aparece como un bacilo grampositivo, anaerobio, capsulado, esporulado e inmóvil. Su morfología es muy característica; se muestra como un bacilo corto y ancho (0,8-1,5 × 2-4 μm) y muy grampositivo. En las extensiones teñidas procedentes de productos patológicos, suele aparecer capsulado. Dicha cápsula, que no se observa en los cultivos constantemente y tiene poder antifagocitario, desempeña claramente un escaso papel en la patogenicidad para el hombre. En las muestras clínicas no se advierte la esporulación, que asimismo es difícilmente demostrable en los cultivos; es necesario para ello recurrir a medios especiales. Los esporos, cuando aparecen, son ovales y subterminales. La presencia de cápsula y su inmovilidad son caracteres que diferencian el microorganismo de otras especies histotóxicas. Algunas de las cepas son relativamente aerotolerantes y sobreviven 72 horas en atmósfera oxigenada e incluso pueden multiplicarse en estas condiciones.

C. perfringens ejerce su acción patógena merced a la producción de múltiples sustancias tóxicas o enzimáticas. Sin-

Tabla 34-3. Especies de Clostridium no neurotóxicas patógenas para el hombre

Enterotóxicas	Piógenas	Histotóxicas
C. perfringens tipos A y C	*C. perfringens*	*C. perfringens*
C. difficile	*C. ramosum*	*C. novyi*
	.....	*C. septicum*
	C. bifermentans	.....
	C. sphenoides	*C. bifermentans*
	C. sporogenes	*C. histolyticum*
	C. innocuum	*C. fallax*, etc.
	C. difficile	
	C. butyricum, etc.	

Por orden de frecuencia (las líneas de puntos separan las aisladas más frecuentemente).

tetiza 12 toxinas histotóxicas, 1 enterotoxina y 3 sustancias enzimáticas. Las histotoxinas se denominan con letras griegas, de la α a la ν. En relación con las 4 toxinas letales más importantes, *C. perfringens* se divide en 5 tipos: A, B, C, D y E (tabla 34-4). Estos diferentes tipos están asociados con cuadros específicos del hombre y los animales. Para el hombre son importantes clínicamente el tipo A, que da lugar a la gangrena gaseosa (mionecrosis clostridiana) y a toxiinfecciones alimentarias, y el C, que produce enteritis necrotizante. La toxina α es producida por los 5 tipos.

Los otros clostridios patógenos para el hombre tienen unas características morfológicas semejantes a *C. perfringens* del que se diferencian en que son acapsulados y la mayoría de ellos, móviles.

Las especies histotóxicas producen toxinas de diversa naturaleza, algunas letales. Después de *C. perfringens*, la que más importancia tiene es *C. novyi*. Es un microorganismo difícil de cultivar, por ser muy sensible al oxígeno, y produce una mionecrosis con un intenso edema y escasa o ninguna cantidad de gas. En relación con las toxinas que sintetiza se divide en 3 tipos, A, B y C, de los cuales A es el que ocasiona gangrena gaseosa más a menudo.

De los clostridios piógenos, aparte *C. perfringens*, es necesario considerar *C. ramosum*, no sólo por ser el segundo agente etiológico en frecuencia de estos procesos, sino también porque presenta amplia resistencia a los antibióticos, especialmente a la penicilina. Es inmóvil, de difícil esporulación y no toxigénico.

Los clostridios están ampliamente difundidos en la naturaleza. Se encuentran siempre en el suelo, donde *C. perfringens* se halla en una concentración de 5×10^4 bacterias por gramo; en este ambiente se mantienen gracias a la resistencia que le proporcionan sus esporos y pueden a partir de él contaminar heridas. Es un integrante de la flora intestinal normal de prácticamente toda la población humana, en que se encuentran en una proporción de 10^9-10^{10} gérmenes por gramo de heces. Las especies más abundantes son por este orden: *C. ramosum* y *C. perfringens*. A partir de este nicho ecológico se producen la mayoría de las contaminaciones endógenas. También se encuentran en la piel, sobre todo en la zona perineal debido a la contaminación fecal, en la boca y en el aparato genital femenino. Diversas especies animales son asimismo huéspedes normales de los clostridios.

Tabla 34-4. Distribución de toxinas letales más importantes en los tipos de C. perfringens

	Toxinas			
Tipo	α	β	ε	ι
A	+	−	−	−
B	+	+	+	−
C	+	+	−	−
D	+	−	+	−
E	+	−	−	+

Tomado de Smith, L. D. S.: The pathogenic anaerobic bacteria, 2.ª ed. Charles C. Thomas, Springfield, 1975.

ACCION PATOGENA

Patogenia

Determinantes de patogenicidad

Dentro de este apartado se analizan de forma exclusiva los correspondientes a *C. perfringens*, por ser los mejor conocidos y más estudiados. El resto de los clostridios histotóxicos producen toxinas de actividades idénticas o similares, aunque inmunológicamente distintas. Los factores patogénicos de los clostridios piógenos son los mismos que se estudian para las bacterias anaerobias no toxigénicas.

C. perfringens produce 17 factores, que se ha demostrado que tienen alguna acción sobre diferentes componentes del cuerpo humano y, por ello, pueden ser considerados como factores de virulencia. De éstos, 12 son toxinas con actividad frente a tejidos (tabla 34-5) y el resto, una enterotoxina, una neuraminidasa, una sialidasa, una hemolisina distinta de las toxinas α, δ y θ, y un factor metabólico.

Las toxinas son antigénicas, proteicas y solubles. Muchas no son letales y se comportan como enzimas que actúan sobre sustratos definidos. De las letales, las más importantes en la patogenicidad son la α, β, ε y ι, y sobre su base *C. perfringens* se divide en 5 tipos (A, B, C, D, E). Los patógenos para el hombre son el A (gangrena gaseosa, toxiinfección alimentaria) y el C (enteritis necrotizante). De todos los factores mencionados anteriormente, los únicos que intervienen en la patogeneidad para el hombre son las toxinas α, β, θ, κ y μ, la enterotoxina, la neuraminidasa y su actividad enzimática. En resumen, la acción patógena de *C. perfringens* se debe a la producción de sustancias tóxicas y enzimáticas, que actúan rompiendo estructuras o membranas o aumentando la permeabilidad vascular, o ambas cosas.

La toxina α es producida por todos los tipos de *C. perfringens*, pero es la principal toxina letal del tipo A. Es una proteína acídica de un peso molecular de 54.000 daltons. Enzimáticamente es una fosfolipasa C (lecitinasa), que rompe la lecitina en dos sustancias inocuas: fosforilcolina y diglicérido; también hidroliza la esfingomielina. Es más activa sobre los lípidos unidos a las membranas que sobre los aislados en estado puro. Destruye las plaquetas, hematíes, leucocitos, células endoteliales y membrana de las células musculares. Es letal, dermonecrótica, hemolítica (responsable de la hemólisis frío-caliente) y causa un amplio daño vascular, con lo que se aumenta la permeabilidad. Es necesaria la presencia de cinc para su producción, así como la de calcio para unir la enzima (la toxina) al sustrato.

Esta toxina α es la principal responsable del daño local en la gangrena gaseosa. Actúa en las membranas celulares,

Tabla 34-5. Toxinas de Clostridium perfringens

Nombre	Acción tóxica	Tipo de *C. perfringens* que la produce
α	Fosfolipasa C, letal, necrótica, hemolítica; aumenta la permeabilidad capilar	A, B, C, D, E
β	Letal, necrótica; aumenta la permeabilidad capilar	B, C
γ	Letal	B, C
δ	Letal, hemolisina	B, C
ε	Letal, necrótica; aumenta la permeabilidad capilar	B, D
η	Letal	A
θ	Hemolisina, oxígeno-lábil	A, B, C, D, E
ι	Letal, necrótica; aumenta la permeabilidad capilar	E
κ	Colagenasa	A, B, C, D, E
λ	Proteasa	B, D, E
μ	Hialuronidasa	A, B, C, D, E
ν	Desoxirribonucleasa	A, B, C, D, E

sobre los complejos lipoproteicos que contienen lecitina y también probablemente sobre las mitocondrias. La estructura de las membranas celulares se altera dando lugar a cambios en la permeabilidad y lisis de las células capilares, y surge así una amplia necrosis con destrucción tisular y gran edema, signos locales todos ellos característicos de este proceso.

Por el contrario, la toxina α no parece provocar los síntomas generales de la gangrena gaseosa, al no pasar en grandes cantidades a la circulación general. Por ello no existe hemólisis intravascular ni cambios en la coagulación ni leucopenia, que son signos que aparecen en cuadros como en las sepsis postaborto por *C. perfringens*. Además, la administración de antitoxinas solas, sin tomar medidas quirúrgicas, no impide la progresión del proceso ni previene la muerte del paciente.

La toxina α es la responsable de la sintomatología de la sepsis por *C. perfringens* tras aborto criminal. El microorganismo, que se introduce vehiculado por los instrumentos «no estériles» utilizados, encuentra las condiciones idóneas para producir la infección en los fragmentos de coágulos y en los tejidos necróticos del feto, placenta y útero. La toxina α actúa sobre la pared de los hematíes destruyéndolos y produciendo también lisolecitina que contribuye a la hemólisis masiva. Existe hemoglobinemia y hemoglobinuria, que

Tabla 34-6. Factores virulentos no letales de Clostridium perfringens

Factor	Actividad	Tipos de *C. perfringens*
Toxina θ	Hemolítica; aumenta la permeabilidad capilar	A, B, C, D
Toxina κ	Colagenasa	Todos
Toxina μ	Hialuronidasa	A, B, C, D
Neuraminidasa	Hidroliza las glicoproteínas séricas	¿Todos?
Enterotoxina	Invierte el transporte intestinal de agua y sales	A, C, D
Actividad metabólica	Crea condiciones de anaerobiosis	¿Todos?

dan lugar al fallo renal y a la hipotensión. La afectación de los hematíes y plaquetas produce liberación de tromboplastina, que contribuye al establecimiento de la coagulación intravascular diseminada.

La toxina β es una toxina letal, necrótica y que aumenta la permeabilidad capilar. Es la responsable de la enteritis necrotizante producida por cepas de *C. perfringens* tipo C. Como la toxina es sensible a la tripsina, el cuadro sólo surge en individuos con déficit en esta enzima, que se produce cuando existe una dieta pobre en proteínas, como aconteció en Alemania en 1947 y en brotes en indígenas de Nueva Guinea. Estos últimos, además, consumen muchas batatas, que contienen un inhibidor de la tripsina termoestable.

Entre los factores no letales que probablemente intervienen en la patogenicidad (tabla 34-6) se encuentra la toxina θ, que es una toxina oxígeno-lábil, relacionada con la estreptolisina O, neumolisina, tetanolisina, etc. Parece ser que el sustrato sobre el que actúa es el colesterol.

La toxina κ es una colagenasa, factor importante en la patogénesis de la gangrena gaseosa. Por un lado, destruye extensamente el colágeno y la pared de los vasos sanguíneos, con lo cual los músculos y tejido conectivo pierden su textura normal y aparece la pulpa muscular llena de sangre extravasada, lesión que es característica de este cuadro. Por otro, al digerir el colágeno, libera aminoácidos que favorecen el desarrollo de *C. perfringens* y la invasión de los tejidos adyacentes no infectados.

La toxina μ es una hialuronidasa que hidroliza parcialmente el ácido hialurónico, lo cual favorece la difusión del microorganismo y de sus productos, especialmente de la toxina α. Es responsable, con esta toxina, del edema masivo que caracteriza la gangrena gaseosa.

El papel de la neuraminidasa en la patogenicidad no está claro; se sabe que hidroliza las glicoproteínas séricas y los gangliósidos. El factor metabólico crea condiciones de anaerobiosis y quizá sea el responsable de los síntomas generales de la gangrena gaseosa y de la muerte. La toxina ν o desoxirribonucleasa parece no tener importancia patogénica, pues actúa sobre el ADN de las células, una vez que éstas han sido destruidas por la toxina α u otras toxinas.

La enterotoxina es producida por muchas cepas del tipo A y pocas de los tipos C y D. Es una proteína termolábil, con un peso molecular de 34.000 daltons. Su síntesis sólo se produce cuando *C. perfringens* esporula y su liberación es por lisis. La sintetizan las cepas que tienen esporos termorresistentes o termosensibles. A diferencia de la enterotoxina colérica ejerce su máxima actividad en el íleon, y es escasa en el duodeno. Inhibe el transporte de la glucosa y daña ligeramente la mucosa, desnuda la superficie de los *villi* y provoca una pérdida proteica hacia la luz del intestino. Parece, pues, que sólo actúa en la mucosa intestinal, aumentando la permeabilidad, vasodilatación y movilidad intestinal, provoca pérdida de agua, cloro y sodio, e inhibe la absorción de la glucosa.

Mecanismo patogénico

Gangrena gaseosa. Para su desarrollo es necesario que exista una puerta de entrada por donde puedan penetrar los clostridios. Lo más frecuente es una herida, pero a veces la puerta de entrada es inaparente y desconocida. La contaminación puede ser exógena (suelo, polvo, aire o vestidos) o

endógena, a partir de la flora normal, y puede instaurarse en el momento de producirse la lesión o más tardíamente.

Una vez que se ha producido la contaminación de los tejidos, es necesario que exista en el foco un bajo potencial de óxido-reducción y un ambiente nutritivo adecuado que permita el crecimiento y multiplicación de los clostridios. El bajo potencial de óxido-reducción puede ocasionarse a consecuencia de: un descenso de aporte sanguíneo por la presencia de tejidos necróticos, esfacelos, cuerpos extraños, etc., a causa del traumatismo inicial; la liberación a partir de los tejidos lesionados de grupos sulfhidrilo, que son reductores; la existencia de enfermedades vasculares que afectan el flujo sanguíneo, como diabetes y arteriosclerosis, y la contaminación conjunta de la herida por bacterias aerobias, facultativas o microaerófilas, que al multiplicarse consumen el oxígeno existente. Es posible que la actividad metabólica del *C. perfringens* contribuya también a crear condiciones de anaerobiosis.

La lesión tisular inicial da lugar a la liberación de sustancias como aminoácidos, hidratos de carbono, sales (la presencia de calcio es importante) y vitaminas, que favorecen el crecimiento de los clostridios. Pero, además, el bajo potencial de óxido-reducción conduce a una oxidación incompleta del piruvato muscular, con acumulación de ácido láctico y disminución del pH. Estas dos circunstancias (bajo potencial de óxido-reducción y pH) ocasionan la liberación de enzimas proteolíticas lisosómicas con autólisis celular y acumulación de más nutrientes, ambiente adecuado para que los clostridios histotóxicos germinen y comiencen a multiplicarse y a sintetizar y liberar sus toxinas, que, al alcanzar una concentración adecuada, difunden a partir del foco inicial y lesionan los tejidos vecinos.

La toxina α ataca las membranas de las células musculares destruyéndolas y provocando la liberación de enzimas lisosómicas que contribuyen a aumentar la necrosis. De esta manera comienza a extenderse la infección a tejidos vecinos. La lesión del endotelio vascular por la lecitinasa C da lugar a la aparición de un edema que afecta el aporte de sangre a los tejidos vecinos, disminuye el potencial de óxido-reducción y el pH y aumenta el área de crecimiento de los clostridios. La colagenasa (toxina κ) contribuye a la destrucción de los tejidos y a la mayor invasión del microorganismo. La hialuronidasa (toxina μ) ya se ha señalado que facilita la difusión del organismo y de sus toxinas, y como despolimeriza el ácido hialurónico, da lugar a carbohidratos que son fermentados por clostridios, produciendo gases. El gas diseca los tejidos y comprime los vasos, por lo que se amplía el área de anaerobiosis y, por tanto, el ámbito de crecimiento y multiplicación del germen. Se desconoce cuáles son las causas de toxicidad general y de la muerte.

Toxiinfección alimentaria. Este proceso aparece casi siempre consecutivo a la ingestión de carne o platos preparados con ésta. Los alimentos se contaminan con *C. perfringens* tipo A en el matadero por la manipulación ulterior, el polvo o las moscas. En el proceso culinario, el calentamiento destruye las formas vegetativas, pero también estimula la germinación de los esporos de las cepas termorresistentes (los termosensibles germinan espontáneamente). Las nuevas formas vegetativas encuentran en estos platos el ambiente adecuado y los factores necesarios para su multiplicación y alcanzan así el número necesario para producir el cuadro clínico, siempre que el tiempo que transcurra entre la preparación del plato y su servicio sea suficiente. Los síntomas sólo aparecen si los microorganismos se encuentran a concentraciones de 10^6 a 10^7 bacterias por gramo, y siempre que se ingieran de 10^8-10^9 células. Las bacterias ingeridas esporulan en el intestino delgado y producen la enterotoxina, que se libera por lisis para posteriormente ejercer su acción.

Cuadro clínico

Los clostridios no neurotóxicos pueden dar lugar a enfermedades intestinales, infecciones de piel y tejidos blandos, y bacteriemias (tabla 34-7).

Procesos intestinales

Intoxicación alimentaria. Es un cuadro leve producido por la enterotoxina de *C. perfringens* tipo A. Después de la ingestión del alimento contaminado, generalmente cárnico, sucede un período de incubación de 8 a 24 horas, que se continúa con un cuadro caracterizado por dolor abdominal agudo y diarrea acuosa sin sangre o moco. Estos síntomas pueden ir acompañados de náuseas, pero no suelen existir vómitos ni tampoco síntomas infecciosos generales, como fiebre, escalofríos y dolor de cabeza.

El cuadro se mantiene 12 a 18 horas y desaparece espontáneamente. Sólo surgen casos fatales en ancianos y personas debilitadas. El padecimiento de la afección no da lugar a inmunidad.

Enteritis necrotizante. Es un proceso grave, asociado con la ingestión de grandes cantidades de carne de cerdo insuficientemente cocida. Los brotes más importantes se

Tabla 34-7. Manifestaciones clínicas de los clostridios en el hombre

Enfermedades intestinales
1. Intoxicación alimentaria
2. Enteritis necrotizante *(pig bel)*
3. Colitis pseudomembranosa
4. Enterocolitis en neutropénicos

Piel y tejidos blandos
1. Contaminación simple
2. Infecciones supuradas
   a) Intraabdominales
   b) Colangitis
   c) Tracto pélvico femenino
   d) Pulmonares
3. Infecciones localizadas de piel y tejidos blandos
   a) Celulitis anaerobia
   b) Infecciones del muñón en diabéticos
   c) Abscesos perirrectales
   d) Ulcera del pie diabética
   e) Ulceras de decúbito
   f) Miositis supurada
   g) Conjuntivitis y oftalmitis
4. Fascitis y celulitis de diseminación difusa
5. Gangrena gaseosa (mionecrosis)
   a) Extremidades
   b) Pared abdominal
   c) Uterina
   d) No traumática

Bacteriemias

han descrito en Alemania y en Nueva Guinea, y en este país el proceso se denominó «*pig bel*». El agente etiológico es *C. perfringens* tipo C, que parece ser que actúa a través de la toxina. Tras un período de incubación inferior a 24 horas, se instaura el cuadro clínico típico, que se caracteriza por dolor abdominal, diarrea sanguinolenta, vómitos y shock. En el intestino delgado, especialmente en el yeyuno, existe una inflamación aguda con áreas de necrosis y gangrena y puede haber perforación intestinal, peritonitis y toxemia aguda. Provoca una mortalidad elevada.

Colitis pseudomembranosa. Este cuadro está producido por *C. difficile*, que también interviene en el desarrollo de un 20-30 % de las diarreas y colitis inespecíficas asociadas al consumo de antimicrobianos. La patogenia de la colitis pseudomembranosa no está perfectamente esclarecida, pero *C. difficile* actúa mediante una enterotoxina (toxina A) y una citotoxina (toxina B). No todas las cepas son toxigénicas. El cuadro suele surgir como complicación de la antibioterapia. Los antimicrobianos que pueden intervenir en el desarrollo de la colitis pseudomembranosa son todos los que se eliminan por vía fecal, los más frecuentemente involucrados han sido clindamicina y β-lactámicos. Las toxinas actúan sobre la pared del intestino grueso y determinan el cuadro. Se observa necrosis de la mucosa y formación de pseudomembranas, y a veces puede perforarse la pared.

Enterocolitis en neutropénicos. Este cuadro también conocido como tiflitis, o síndrome ileocecal, parece que está producido por *C. septicum*.

Procesos de piel y tejidos blandos

Contaminación simple. Es un concepto bacteriológico con presencia de clostridios en una herida sin que exista enfermedad infecciosa o signos de ésta. Ocurre debido a que los clostridios no son patógenos o porque no encuentran las condiciones adecuadas para inducir una acción patógena (infección piógena o proceso histotóxico). La contaminación simple de la herida, aunque no tenga significado clínico, es un estadio obligado y previo para el desarrollo de las infecciones por clostridios localizados en la piel y tejidos blandos y no requiere la instauración de una terapéutica específica.

Infecciones supuradas. Son situaciones idénticas a las producidas por las bacterias anaerobias no toxigénicas. Tienen, como ya hemos señalado, una etiología polimicrobiana. Los clostridios son unos agentes etiológicos más, dentro de las bacterias que están presentes en el foco, y no existen signos locales ni generales de la actuación de las histotoxinas. Las especies aisladas más a menudo son *C. perfringens*, *C. ramosum* y *C. bifermentans* y los cuadros más importantes en los que están involucrados son: infecciones intraabdominales (generalmente asociadas a perforaciones intestinales o carcinomas, o ambos), colangitis e infecciones del tracto genital femenino y pulmonares (normalmente empiemas secundarios a lesiones traumáticas o a neumonías por aspiración).

Infecciones localizadas de piel y tejidos blandos. En general son procesos bastante indolentes, que se extienden a zonas adyacentes lentamente, pero en ocasiones pueden tomar un curso invasivo y dar lugar a necrosis locales extensas. Se incluyen en este apartado: celulitis anaerobia, infección del muñón en amputados, abscesos perirrectales, úlceras diabéticas del pie, úlceras de decúbito, miositis supuradas, conjuntivitis y oftalmitis. Aunque los clostridios pueden producirlos solos o en asociación, estos procesos con idénticas manifestaciones clínicas pueden ser provocados por otras bacterias.

La celulitis anaerobia por clostridios es una infección aguda de los tejidos blandos, con afectación del tejido conjuntivo. Surge por contaminación del tejido subcutáneo a partir de heridas accidentales o quirúrgicas o de infecciones localizadas preexistentes. Tiene un comienzo gradual y normalmente no hay signos generales importantes (toxemia). El primer síntoma local es un dolor moderado, seguido de hinchazón, eritema, dolor al tacto y crepitación. La producción de gas permite la difusión de los microorganismos y puede diagnosticarse por palpación o mediante rayos X. La infección puede permanecer localizada o extenderse. La herida o drenaje emiten gas y cantidades variables de un pus oscuro y maloliente. No se afectan fascias ni músculos.

Fascitis y celulitis de diseminación difusa. Se trata de una enfermedad infecciosa grave, de comienzo brusco y de curso rápido. Existe supuración y gran producción de gas, que se extiende velozmente a través de los diferentes planos de las fascias. A la palpación hay crepitación subcutánea y ligero dolor. Existen signos intensos de toxemia, con shock, fallo renal y hemólisis vascular. La muerte sobreviene rápidamente; lo normal es que acontezca a las 48 a 72 horas después del comienzo del cuadro. Puede surgir asociada a carcinoma de colon, inyecciones o pequeñas lesiones traumáticas o bien sin existir antecedente alguno.

Gangrena gaseosa o mionecrosis por Clostridium. Los agentes etiológicos de esta enfermedad infecciosa son los clostridios histotóxicos. Los que más importancia tienen, por la frecuencia con que la desarrollan, son *C. perfringens* (80 %), *C. novyi*, en especial el tipo A (40 %), *C. septicum* (20 %) y *C. bifermentans*. También han sido responsabilizados: *C. histolyticum*, *C. sporogenes*, *C. fallax* y *C. tertium*. Todos estos gérmenes son capaces de producir el cuadro, solos o en asociación.

Se caracteriza por destrucción muscular y signos generales de toxemia. Tras la lesión inicial, comúnmente consecutiva a un traumatismo o a cirugía, hay un período de incubación cuya duración oscila de 8 horas a 20 días, normalmente 4 días. Al cabo de este tiempo y de forma súbita aparece dolorimiento en la herida, que aumenta en intensidad de forma paulatina y se extiende simultáneamente con la infección. Hay hinchazón, edema y un ligero exudado serohemorrágico, que puede tener un olor dulzón desagradable. La piel está edematosa y tensa y tiene una coloración pálida marmórea. Existe taquicardia, que no se corresponde con el grado de la fiebre. Con el tiempo, estos síntomas aumentan, la piel toma un aspecto más oscuro y bronceado y aparecen grandes bullas hemorrágicas y frecuentemente gas, aunque no de una forma tan evidente como en la celulitis anaerobia. Es típico el estado mental del enfermo que se mantiene lúcido hasta que aparece el «delirio tóxico». Hay hipotensión, shock y fallo renal. La muerte sin tratamiento acontece rápidamente.

Cuando el agente etiológico es *C. novyi*, el cuadro tiene un período de incubación mayor, y existe a nivel local un edema intenso; la descarga es de color amarillo dorado y la producción de gas, pequeña o inexistente. A nivel general existe toxemia intensa. El grado de mortalidad es muy alto.

La gangrena gaseosa puede ser consecuencia de traumatismos, especialmente cuando existen gran destrucción tisular, cuerpos extraños, fracturas abiertas o cualquier circunstancia que limite o suprima el aporte sanguíneo a la zona, o todos ellos. En estos casos, la contaminación suele ser exógena. También se desarrolla tras intervenciones quirúrgicas, especialmente de miembros inferiores, intestino y vesícula biliar, y la contaminación en la mayoría de las ocasiones es endógena, a partir del intestino o de la piel contaminada con heces. En la gangrena gaseosa espontánea o no traumática no se encuentra una lesión inicial que justifique su desarrollo. Se suele asociar a tumores y lesiones ulcerosas del tubo digestivo, vías biliares o tracto genitourinario, y tiene un curso muy grave.

En cuanto a la localización, aparece sobre todo en los miembros, la pared abdominal y el útero (sepsis puerperal), pero puede afectar los pulmones, cavidad pleural, hígado, etc. La sepsis puerperal por *Clostridium* es un cuadro clínico que aparece tras instrumentaciones del tracto genital, especialmente después de un aborto séptico, pero en ocasiones es consecutiva a un parto normal.

Se puede presentar bajo dos formas clínicas diferentes. En una se afecta sólo el contenido uterino, mientras que en la otra se interesa también el miometrio, con necrosis y destrucción gelatinosa y posibilidad de extensión pélvica (verdadera gangrena uterina). En la primera no existe toxemia, hay dolorimiento uterino y flujo vaginal, y es de buen pronóstico. En la segunda forma clínica, el período de incubación es de 2 a 3 días, y se instaura el cuadro súbitamente a continuación. A nivel local hay dolor abdominal y uterino y un flujo maloliente y gaseoso. Existe una fuerte toxemia, y la toxina α da lugar a una intensa anemia hemolítica, hemoglobinemia, hemoglobinuria, hiperbilirrubinemia, color bronceado de la piel, coagulación intravascular diseminada, hipotensión o shock, y oliguria o anuria. Tiene un curso rápido con una mortalidad elevada.

Bacteriemias

Cualquiera de las infecciones de la piel y tejidos blandos ocasionadas por *Clostridium* puede ser el punto de partida de una bacteriemia producida por estos microorganismos. En ocasiones surge espontáneamente, sin foco séptico manifiesto. La especie que interviene más a menudo es *C. perfringens*. Las formas septicémicas graves con intensa hemólisis son raras y, por el contrario, en muchas ocasiones existen bacteriemias que no tienen ningún significado clínico.

Dentro de las bacteriemias por clostridios, tienen ciertos rasgos específicos las producidas por *C. septicum*. Aparecen en pacientes con tumores sólidos, especialmente del intestino grueso, y en enfermos hematológicos, y la puerta de entrada suele ser digestiva en ciego e íleo distal. Tiene una evolución clínica fulminante, con un curso fatal, excepto en los casos en que existe diagnóstico y tratamiento precoz y adecuado. Es una enfermedad aguda, que se presenta con un estado de toxemia extrema y fiebre, y puede haber dolor abdominal, hemólisis intravascular, signos de formación de gases en abdomen y metástasis séptica.

Diagnóstico

La rapidez evolutiva y la gravedad de la mayoría de los procesos analizados en este capítulo condicionan el que no existan pruebas microbiológicas adecuadas para establecer un diagnóstico etiológico con la celeridad necesaria. Por ello, el diagnóstico es en casi todos los casos clínico. No obstante, los estudios bacteriológicos tienen gran interés para poder determinar con exactitud cuál o cuáles son los agentes etiológicos, para poder así instaurar un tratamiento adecuado ante la aparición de situaciones clínicas similares futuras.

Infecciones de la piel y tejidos blandos

La toma de la muestra ha de realizarse de forma precoz, en especial en la gangrena gaseosa, para poder establecer inmediatamente después el tratamiento. Al recogerla se evitará la contaminación con la flora de asociación, empleando preferentemente la aspiración con jeringuilla. Dado que algunos clostridios de interés clínico son bastante sensibles al oxígeno, la muestra recogida debe transportarse de forma tal que esté en contacto con el aire el menor tiempo posible. Inmediatamente se siembra en medios de cultivos adecuados.

Examen microscópico. Por la tinción de Gram se pone de manifiesto la presencia de bacilos grampositivos esporulados, con frecuencia asociados a otros microorganismos, pues estas infecciones suelen ser polimicrobianas. Es necesario señalar que la simple visualización de bacilos grampositivos esporulados no es indicativa de infección y puede tratarse tan sólo de una contaminación. En la gangrena gaseosa y cuando el agente causal es *C. perfringens*, es característico ver bacilos grampositivos cortos y gruesos, de 1-1,5 × 2-4 μm, rara vez esporulados y que pueden aparecer capsulados. Es característica la ausencia de células inflamatorias o la presencia de escasos polinucleares intactos. *C. perfringens* puede ponerse también de manifiesto mediante tinción con anticuerpos fluorescentes.

Cultivo e identificación. Deben seguirse las normas dadas para el resto de las infecciones producidas por anaerobios: siembra de la muestra en tres placas de agar-sangre, que se incuban en atmósfera normal, atmósfera con 10 % de CO_2 y anaerobiosis. Se verifica el tipo respiratorio y se identifican posteriormente las bacterias anaerobias estudiando sus caracteres morfológicos y tintoriales, las propiedades bioquímicas y el análisis de los productos resultantes de su metabolismo por cromatografía gas-líquido.

Para la identificación de *C. perfringens*, es útil la demostración de su actividad lecitinásica y la inhibición de ésta con antitoxina. Para esta prueba se siembra el microorganismo en una placa de agar-yema de huevo, a la que se añade en una hemiplaca el antisuero. Es típica asimismo de este microorganismo la fermentación tumultuosa de la leche, fenómeno que se debe al fermentarse la lactosa y producirse grandes cantidades de ácido (que coagula la caseína) y de gases (que rompen este coágulo).

Infecciones intestinales

Toxiinfección alimentaria. El diagnóstico puede establecerse de una forma presuntiva si se aísla *C. perfringens* a partir de las heces en un número superior al normal. Más definitivo es el aislamiento en el alimento implicado en una concentración superior a 10^6 bacterias por gramo, especialmente si va acompañado de aislamiento de cepas enterotoxigénicas en heces, en una gran proporción. Para establecer el diagnóstico definitivo, las cepas del alimento y de las heces deben ser serológicamente idénticas.

Colitis pseudomembranosa. La citotoxina de *C. difficile* puede detectarse rápidamente demostrando su acción histotóxica sobre un cultivo de células amnióticas. Este fenómeno se inhibe con suero antigangrenoso polivalente y con la antitoxina de *C. sordelli*. La inoculación de heces del enfermo, del microorganismo o de su toxina en el ciego del hámster produce en este animal una colitis grave. La bacteria se puede aislar sembrando en un medio selectivo que contiene cefoxitina y cicloserina. Esta siembra puede estar precedida de un pase previo en un medio de enriquecimiento.

Tratamiento

Cuadros intestinales

La toxiinfección alimentaria requiere un tratamiento de sostén, reponiendo si es necesario líquidos y electrólitos. La enteritis necrotizante se puede tratar con antitoxina β de *C. perfringens*, que disminuye la mortalidad. La vancomicina administrada por vía oral es el tratamiento de elección de la colitis pseudomembranosa, al presentar actividad frente a la práctica totalidad de las cepas de *C. difficile*; de esta forma, se elimina el microorganismo y se interrumpe la producción de la citotoxina. Es necesario, además, poner en marcha las medidas de sostén necesarias. Como alternativa se puede utilizar bacitracina o metronidazol.

Infecciones de piel y tejidos blandos

Para las infecciones distintas a la gangrena gaseosa, las medidas terapéuticas que hay que emplear son las mismas que se señalan en el capítulo dedicado a las infecciones producidas por bacterias anaerobias no toxigénicas. En cuanto al tratamiento antibiótico, el fármaco de elección es la penicilina G, salvo en el caso en que esté implicado *C. ramosum*, que por su alta resistencia a este fármaco requiere el empleo de cloranfenicol, vancomicina o metronidazol.

En la gangrena gaseosa se aconsejan las siguientes medidas:

Tratamiento quirúrgico. Debe ser precoz y agresivo, con extirpación de todos los tejidos necróticos afectados, incluso con amputación de un miembro. En la afectación uterina leve basta un *curetage*, pero en la mionecrosis es necesario realizar una histerectomía. En celulitis anaerobia se escinde toda la zona afectada, se eliminan todos los tejidos necróticos y se deja un drenaje.

Antibioterapia. El fármaco de elección es la penicilina, a dosis elevadas. En caso de alergia se puede utilizar cloranfenicol o cefoxitina. Cuando se trata de infecciones asociadas, para cubrir el espectro se puede asociar un aminoglucósido, como la gentamicina.

Seroterapia. El valor de la antitoxina en el tratamiento de la gangrena gaseosa no está aún perfectamente determinado. Su eficacia a nivel local es dudosa, pues, por un lado, las toxinas están fijadas en los tejidos y, por otro, como es característico de este proceso, la circulación está seriamente afectada. Por el contrario, se utilizará, siempre que haya signos generales de toxemia, como hemólisis, coagulación intravascular diseminada, etc., con el fin de neutralizar las toxinas circulantes. Se emplea suero equino pentavalente, con las precauciones necesarias, en dosis que oscilan de 25.000 a 100.000 U. La vía que hay que utilizar es al principio la intravenosa, para pasar posteriormente a la intramuscular.

Oxígeno hiperbárico. Consiste en aplicar oxígeno puro al 100 %, a una presión de 3 atm. Experimentalmente se ha demostrado que inhibe el crecimiento de los clostridios y la producción de sus toxinas. Su valor real en la clínica está por demostrar, ya que, si bien hay experiencias aparentemente esperanzadoras, precisan corroborarse mediante estudios de control serios. No obstante, parece que su utilización aumenta el porcentaje de supervivencia y evita la amputación.

Epidemiología y profilaxis

Los principales reservorios y fuentes de infección de los clostridios son el suelo, tubo digestivo, boca, aparato genital femenino y piel del hombre, donde se encuentran como flora normal, y los animales como ya hemos apuntado de forma reiterada.

La contaminación, por lo tanto, puede ser endógena, que es la más frecuente, o exógena, a tenor de todas aquellas circunstancias espontáneas o provocadas que introduzcan los gérmenes del exterior o rompan las superficies cutáneo-mucosas que limitan la flora normal. En la gangrena gaseosa tienen interés las heridas extensas anfractuosas, irregulares y contaminadas, que afectan el aporte sanguíneo (heridas de guerra, lesiones traumáticas por accidentes de circulación, heridas de armas de fuego, etc.), y las lesiones producidas por cirugía, especialmente cuando ésta se localiza en zonas próximas al «hábitat» normal de los clostridios. En la toxiinfección alimentaria, la contaminación de los alimentos, generalmente cárnicos, tiene lugar en cualquiera de los eslabones de la cadena alimentaria, que van desde su obtención al procesado culinario.

Son especialmente sensibles a las infecciones tisulares por clostridios los diabéticos, pacientes con deficiencias en el sistema inmunitario, enfermos con carcinomas de colon y todas aquellas personas que sufran procesos o lesiones, en que se conjugue la existencia de un bajo potencial de óxido-reducción y un ambiente nutritivo adecuado para los clostridios.

En cuanto a las medidas preventivas, las lesiones sospechosas a partir de las cuales se puede desarrollar una gangrena gaseosa requieren un desbridamiento precoz y adecuado.

Deben eliminarse todos los cuerpos extraños y tejidos necróticos, con el fin de evitar que se creen las condiciones necesarias para la multiplicación de los clostridios. Se retardará la rotura y se mantendrá un drenaje.

Para la quimioprofilaxis, el fármaco de elección es la penicilina G, que se administra precozmente por vía general y a dosis altas (puede llegar en las heridas graves a 10 millones de unidades). Como alternativa se puede emplear el cloranfenicol. La utilización de antisueros específicos y de oxígeno hiperbárico no tiene valor en la prevención. Hasta el momento no hay vacunas eficaces.

La toxiinfección alimentaria se previene en primer lugar evitando la contaminación y conservando después los alimentos preparados que no se vayan a ingerir inmediatamente en unas condiciones térmicas que eviten la multiplicación de *C. perfringens*, es decir, por encima de 60 °C o por debajo de 5 °C (refrigeración en nevera).

La colitis pseudomembranosa se previene evitando el uso innecesario de clindamicina por vía oral; se utiliza, si es posible, otro antibiótico.

Clostridium botulinum

CONCEPTO Y CLASIFICACION

C. botulinum son bacilos grampositivos, anaerobios, rectos o ligeramente curvados. Son grandes, con un tamaño de 2-10 × 0,5-1,9 μm, acapsulados, esporulados y móviles al estar dotados de flagelos perítricos. Los esporos son ovales, subterminales y distienden el soma bacteriano. Metabólicamente, las cepas que constituyen esta especie no presentan un comportamiento uniforme y son muy variables. De entrada se pueden diferenciar 2 grupos en relación al poder proteolítico (según lo sean o no) y 7 considerando el tipo de toxina producida. Aunque con acción farmacológica idéntica, la cepas de *C. botulinum* producen 7 neurotoxinas inmunológicamente diferentes, que se denominan con letras mayusculas de A a G, y dan lugar a 7 grupos toxigénicos distintos. En relación con sus propiedades fisiológicas se han dividido en 4 grupos que aparecen reflejados en la tabla 34-8.

C. botulinum tiene al menos 4 componentes antigénicos: flagelar, somático, esporal y de exotoxinas. De todos ellos, las exotoxinas son las únicas bien estudiadas.

El cuadro clínico producido por estas bacterias está determinado específicamente por sus neurotoxinas y se caracteriza por la aparición de debilidad muscular o parálisis fláccida simétrica y descendente. Los tipos toxigénicos A, B, E y, a veces, F son los responsables de la enfermedad en el hombre, los tipos C y D aparecen en los pájaros y mamíferos no humanos y el G se aísla del suelo. Ultimamente se le ha aislado a partir de material de autopsia de personas que fallecieron de muerte súbita.

Gracias a los esporos termoestables, *C. botulinum* está ampliamente distribuido, aunque de forma irregular, ya que en las distintas localizaciones geográficas existen sólo determinados tipos toxigénicos. Forma parte de la microflora del suelo, pero se encuentra también en el sedimento marino y contaminando distintos alimentos (particularmente vegetales y pescados).

Tabla 34-8. Constituyentes de los grupos fisiológicos de C. botulinum

Grupos fisiológicos	Grupos serológicos
I	A y cepas proteolíticas B y F
II	E y cepas no proteolíticas B y F
III	C y D
IV	G

ACCION PATOGENA

Patogenia

Determinantes de patogenicidad

C. botulinum, como se ha señalado, produce 7 neurotoxinas inmunológicamente diferentes (A, B, C, D, E, F y G). Son toxinas intracelulares, se sintetizan durante el crecimiento bacteriano, se acumulan en el protoplasma y se liberan por lisis celular. Se producen como prototoxinas no tóxicas o como toxinas progenitoras ligeramente tóxicas. Son activadas por enzimas proteolíticas endógenas, como las proteasas producidas por las cepas proteolíticas (A, B, F y algunas C y D), o exógenas por la tripsina digestiva en las cepas no proteolíticas (C, D, E y G y algunas B y F). El control genético de la síntesis de las neurotoxinas botulínicas es probable que esté ejercido por un fago específico. Este tipo de control se ha demostrado en *C. botulinum* tipos C y D, y la capacidad de síntesis de la toxina se ha logrado transmitir, por medio de fagos, de *C. botulinum* tipo C a *C. novyi* tipo A.

Son toxinas proteicas termolábiles; se destruyen por ebullición en 5 minutos, y a 80 y 70 °C en 30 y 60 minutos, respectivamente. Una vez purificadas, aparecen como complejos de neurotoxinas (peso molecular de 150.000 daltons) y otras sustancias (preferentemente hemaglutininas). La hemaglutinina es un componente importante en la toxina A y tiene un peso molecular de 300.000 daltons. Los distintos tipos de toxinas difieren en el grado de polimerización, composición en aminoácidos y requerimiento de activación enzimática.

Sobre la base del peso, las toxinas botulínicas son los venenos más potentes que se conocen, son neuroparalíticas, y la dosis letal mínima para el hombre es de 10^{-8} g. La afinidad de las distintas toxinas por el sistema nervioso es variable; la más neurófila es la A y la menos afín, la B.

Para la producción de la toxina se requiere la existencia de condiciones de anaerobiosis adecuadas. La temperatura óptima para su síntesis es de alrededor de 30 °C, pero puede sintetizarse a temperatura de frigorífico; el pH óptimo se mantiene próximo a 7 (el pH ácido es inadecuado para la germinación y la producción de toxina, razón por la cual se explica que los alimentos ácidos sean los más seguros).

Mecanismo patogénico

Las toxinas botulínicas se absorben a partir del tubo gastrointestinal (estómago e intestino delgado) tras la ingestión de alimentos contaminados y, más raramente, en el botulismo del lactante, después de su producción *in situ* o bien a partir de las heridas infectadas. Se transportan por vía linfática y sanguínea hasta el lugar donde ejercen su actividad. Actúan sobre las terminaciones nerviosas colinérgicas del sistema nervioso periférico, es decir, en la placa neuromuscular, en las sinapsis ganglionares y en las fibras posganglionares parasimpáticas, inhibiendo la liberación de acetilcolina. De este modo causan una parálisis fláccida del músculo esquelético y un fallo parasimpático. No tienen actividad sobre el SNC y se desconoce cuáles son los receptores específicos de las toxinas y su mecanismo de fijación.

Aunque el mecanismo de acción molecular no se conoce, se considera que la actividad tóxica depende de cambios en la membrana que se asocian con la liberación de acetilcolina, pues no está afectada la conductividad nerviosa ni la sensibilidad de la membrana muscular a la acetilcolina. Hay dos etapas: en una, la toxina se une específicamente a la membrana y, en otra, se impide la liberación de acetilcolina por un mecanismo aún no aclarado.

El botulismo instaurado a partir de heridas, surge cuando en una herida contaminada por *C. botulinum* se dan las condiciones de anaerobiosis necesarias para que esta bacteria crezca, se multiplique y sintetice la toxina.

Cuadro clínico

En la mayoría de las ocasiones, el cuadro clínico surge por la ingestión de alimentos que llevan preformada la exotoxina (intoxicación alimentaria), pero también se han descrito casos en los que el microorganismo infecta heridas (botulismo de heridas) o produce la toxina *in situ*, en el tubo gastrointestinal (toxiinfección alimentaria). Por último, el cuadro puede aparecer en individuos de más de 1 año en los que no están implicados alimentos o heridas.

Intoxicación alimentaria

El período de incubación tras la ingestión del alimento es de 18 a 36 horas, pero puede oscilar desde algunas horas hasta 8-10 días. En general, el cuadro es más grave si el período de incubación es inferior a 24 horas. Las cepas de *C. botulinum* tipo A producen procesos más severos y de peor pronóstico que las de los otros tipos.

El cuadro se caracteriza por la aparición de *manifestaciones neurológicas*, que consisten en una parálisis fláccida simétrica y descendente, que primero afecta los músculos dependientes de los pares craneales. No hay fiebre, al menos al principio, y puede aparecer más tarde en el curso de complicaciones infecciosas, especialmente neumonías. El sensorio no está alterado, los procesos mentales son claros y el pulso es normal o lento, aunque puede surgir taquicardia si se desarrolla hipertensión.

Los síntomas más comunes incluyen diplopía, visión borrosa, fotofobia, disfonía, disartria y disfagia. Las pupilas están a menudo, pero no siempre, dilatadas y fijas. Las mucosas de la boca, lengua y faringe aparecen extremadamente secas, incluso dolorosas, lo cual da la impresión de tratarse de una faringitis. Existe debilidad de extremidades y de los músculos respiratorios, que pueden llegar a paralizarse. Puede haber incontinencia y retención urinaria, íleo o constipación y a veces náuseas y vómitos.

En la mayoría de las ocasiones, la muerte sobreviene por un fallo respiratorio secundario a la afectación de los músculos respiratorios y de la función bulbar. También puede deberse a arritmias cardiacas o a neumonías por aspiración y asfixia.

En caso de curación, la convalecencia es muy gradual y oscila de varias semanas a algunos meses.

Botulismo de heridas

Tiene un período de incubación de 4 a 14 días y es consecutivo a heridas, cortaduras o lesiones, en las que normalmente hay evidencia de contaminación a partir del suelo. El proceso puede aparecer sin que haya una infección manifiesta de estas lesiones. El cuadro es semejante al de la intoxicación, aunque la fiebre suele estar presente y los síntomas gastrointestinales, ausentes.

Botulismo del lactante

Recientemente se ha descrito un nuevo cuadro producido por *C. botulinum*, en lactantes de 3 a 20 semanas de edad. El primer síntoma es la aparición de estreñimiento, que suele pasar inadvertido. Los síntomas neurológicos se observan de 1 a 30 días después y se caracterizan por disminución de la capacidad de succión de la mama o biberón, llanto, debilitamiento y alteración del tono. Los alimentos y secreciones se acumulan en la faringe posterior y el reflejo del vómito está disminuido. Normalmente existen ptosis, oftalmoplejía y expresión facial fláccida. Se desarrolla debilidad muscular generalizada e hipotonía, que se manifiesta por pérdida del control de la cabeza. Puede surgir un paro respiratorio.

Se considera que las formas graves del cuadro pueden tener relación con algunos de los casos del síndrome de la «muerte súbita» del lactante.

No se sabe exactamente cómo se adquiere la enfermedad, pero es seguro que no se debe a la ingesta de toxina con los alimentos. Se considera que estos niños ingieren alimentos con esporos que germinan en el tubo intestinal y producen la toxina *in situ*. Se piensa que la ingestión de miel es un factor de riesgo. En los casos descritos no se ha detectado la toxina en los alimentos ni en el suero, pero sí en las heces. En algunos pacientes y después de recobrarse de la enfermedad sin secuelas, se ha encontrado *C. botulinum* y toxina en las heces hasta 3 meses después de producirse el alta hospitalaria.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico del botulismo se puede confirmar demostrando: *a)* la toxina en la sangre del paciente; *b)* la toxina o la bacteria, o ambas, en las heces, vómitos o contenido gástrico: *c)* la toxina o la bacteria, o ambas, en el alimento sos-

pechoso ingerido; *d)* la bacteria en los exudados de heridas y en los tejidos.

Las muestras, salvo los exudados de heridas y tejidos, se deben refrigerar y examinar rápidamente.

Para demostrar la toxina, las técnicas más seguras son las de inoculación experimental en el ratón, para evaluar las pruebas de protección o neutralización. Se puede requerir la activación con tripsina para las toxinas E y G, y, en algunos casos, en las F y B. Dado que los 8 tipos de *C. botulinum* producen neurotoxinas antigénicamente distintas, esta especificidad se utiliza en las pruebas de protección animal para determinar el tipo de microorganismo.

También se puede emplear el radioinmunoensayo y la electroinmunodifusión; esta última técnica es rápida y efectiva.

El organismo puede ponerse en evidencia mediante la inmunofluorescencia directa o indirecta, técnica que puede ser útil para diferenciar los distintos tipos toxigénicos. En ocasiones se establece un diagnóstico rápido y presuntivo.

El cultivo e identificación del microorganismo, principalmente a partir de esporos, requieren la misma metodología que se emplea para el resto de las infecciones por anaerobios. El diagnóstico se establece sobre la base de las propiedades bioquímicas y cromatográficas. Para diferenciar las cepas de *C. botulinum* tipo A y las proteolíticas de los tipos B y F de *C. sporogenes*, es necesario recurrir a la demostración de la capacidad toxigénica.

TRATAMIENTO

El esquema terapéutico que debe seguirse en el botulismo se orienta principalmente a combatir los distintos pasos patogénicos que sigue *C. botulinum* para producir enfermedad.

Eliminación de la toxina del tubo digestivo

Si el alimento contaminado se ha ingerido poco tiempo antes del momento en que se va a instaurar el tratamiento, se provoca el vómito, y se realiza un lavado de estómago. Si ha transcurrido más tiempo, incluso días, se administra un purgante conjuntamente con enemas abundantes, salvo si el paciente tiene un íleo paralítico, con lo que se facilita la eliminación del tubo digestivo de la toxina no absorbida.

Neutralización de la toxina con suero antitóxico

Sólo existe antitoxina equina, por lo que previamente es necesario comprobar si el paciente presenta sensibilización al suero de caballo. Su aplicación puede dar lugar no sólo a fenómenos anafilácticos (hipersensibilidad tipo I), sino también a la aparición de la enfermedad del suero (hipersensibilidad tipo III), de ahí que, al administrarla, se deba disponer siempre en reserva de ampollas de adrenalina. Esta medida terapéutica debe ponerse en práctica lo más rápidamente posible, una vez diagnosticado clínicamente el botulismo y después de realizar las tomas necesarias para poderlo corroborar microbiológicamente. La antitoxina ha de administrarse a todas las personas que presenten los signos clínicos del botulismo y a aquellas otras asintomáticas que hayan ingerido un alimento que se sepa con certeza que está contaminado. Si no se ha identificado el tipo de toxina que produce el cuadro, se utiliza antitoxina trivalente (anti-A, B y E). Si esto se ha hecho, se dispone de suero monovalente anti-E y bivalente anti-A y B.

Eliminación del microorganismo

En el botulismo de heridas se efectúa un desbridamiento con irrigación y se administra penicilina. En caso de alergia a este antibiótico se puede utilizar tetraciclina o cloranfenicol. La administración de antibióticos tiene también interés para evitar la producción de toxina *in vivo* en el tubo intestinal, ya que existen pruebas de que esto puede ocurrir.

Medidas de sostén

Si el enfermo presenta signos neurológicos, es necesario ingresarlo en una unidad de cuidados intensivos para vigilar sus funciones respiratoria y cardiaca. Cuando exista afectación bulbar o respiratoria, se efectuará una traqueotomía y se pondrán en práctica las medidas auxiliares respiratorias necesarias.

El uso de hidroclorhidrato de guanidina es controvertido por presentar efectos secundarios. Se sabe que este fármaco estimula la secreción sináptica de acetilcolina, pero hasta el momento se desconoce su verdadera actividad terapéutica en el botulismo.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

El reservorio de *C. botulinum* es principalmente telúrico, pero también son fuente de infección el agua y el conducto intestinal de los animales, incluidos peces. Los tipos A y B están muy difundidos por todo el mundo, y el tipo E se encuentra principalmente en el sedimento marino y en peces. Dado que la distribución geográfica de los distintos tipos toxigénicos varía con las regiones, existe una correlación entre los tipos aislados en las intoxicaciones humanas en un determinado lugar y los que se aíslan del suelo.

La intoxicación es consecutiva a la ingestión de alimentos con toxina preformada en ellos: la mayoría de las veces, conservas caseras o alimentos preparados y sólo ocasionalmente conservas comerciales. La producción de la toxina implica que los sistemas de envasado y preparación de las conservas se han mostrado inadecuados para destruir los esporos del microorganismo y las condiciones de conservación han permitido su multiplicación y la producción de la toxina. Las conservas que con mayor frecuencia dan lugar a brotes son las vegetales, por la fácil contaminación a partir del reservorio telúrico. Las conservas de pescado producen la mayoría de los brotes por *C. botulinum* tipo E y con mucho menor frecuencia lo hacen las de frutas, cárnicas, etc. El botulismo es un proceso raro, surge de forma esporádica y frecuentemente en ambiente familiar. Por no ser de declaración obligatoria en nuestro país se desconoce su incidencia y tampoco se dispone de datos sobre la distribución de los esporos de *C. botulinum* en las diferentes zonas geográficas.

En la prevención, el primer paso está dirigido a evitar la presencia de esporos en los alimentos. Como las más peligrosas son las conservas caseras, en su fabricación se utilizarán recipientes estériles y los procesos de conservación que hay que emplear serán, si es posible, térmicos a presión. A nivel industrial se exigirá un control riguroso de los procesos de preparación de las conservas comerciales y de platos preparados.

Al utilizar las conservas, se desecharán aquellas que presentan caracteres organolépticos alterados, lo que sólo puede ocurrir en la contaminación con cepas proteolíticas. Para destruir la toxina, se hervirán durante 10 minutos.

Existe una vacuna constituida por toxoide pentavalente, absorbido sobre sulfato de aluminio o adyuvante de Freund. Como el riesgo de enfermedad es pequeño, sólo se administra a las personas particularmente predispuestas, como las que trabajan con este microorganismo o sus toxinas. Se aplica en dos dosis, separadas por 10 semanas, con una dosis de refuerzo al cabo de 1 año.

El suero antitóxico sólo se utiliza profilácticamente en aquellas personas que se tenga la certeza de que han ingerido un alimento contaminado. Para su administración se deben seguir las normas que derivan de la utilización de un suero de origen equino.

BIBLIOGRAFIA

Allen, S. D.: Clostridium. En Lennette, E. H. (dir.): Manual of Clinical Microbiology. 4.ª ed., 434-444. American Society for Microbiology, Washington, 1985.

Bizzini, B.: Tetanus toxin. Microbiol. Rev., 43, 224-240, 1979.

Cato, E. P.; George, W. L., y Finegold, S. M.: Genus Clostridium. En Smeath, P. H. A.; Mair, N. S.; Sharpe, M. E., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2, 1141-1200. Williams and Wilkins, Baltimore, 1986.

Feldman, R. A. (dir): A Seminar on Infant Botulism. Rev. Infect. Dis., 1, 607-700, 1979.

Finegold, S. M.: Anaerobic Bacteria in Human Disease. Academic Press. New York, 1977.

García-Rodríguez, J. A. (dir.): Bacterias anaerobias: importancia clínica y microbiológica. Universidad de Salamanca, Salamanca, 1980.

García-Rodríguez, J. A., y García Sánchez, J. E.: Etiología de las gastroenteritis por *Clostridium perfringens*. Laboratorio, 75, 441-457, 1983.

García-Rodríguez, J. A., y García Sánchez, J. E.: Bacteriología y tratamiento de la sepsis anaerobia. En: Aspectos Actuales en Biología y Medicina, 211-223. Libro-Homenaje al prof. A. Pumarola. Departamento de Microbiología y Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina, Valladolid, 1984.

García-Rodríguez, J. A., y Gómez García, A. C.: Infecciones por *Clostridium difficile*. En: Aspectos Actuales en Biología y Medicina, 131-143. Libro-Homenaje al prof. A. Pumarola. Departamento de Microbiología y Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina, Valladolid, 1984.

Gorbach, S. L.: Other *Clostridium species* (including gas gangrena). En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed., 1362-1368. Wiley, New York, 1985.

Martin, R. R.: *Clostridium tetani* (tetanus). En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed., 1355-1359. Wiley, New York, 1985.

Midura, T. F.: Infant Botulism. Clin. Microbiol. N. Let., 2, 12, 1-2, 1980.

Schaffner, W.: *Clostridium botulinum* (botulism). En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed., 1359-1362, 1985.

Smith, L. D. S.: Botulism. The organism. Its toxins. The Disease. Charles C. Thomas, Springfield, 1977.

Smith, L. D. S.: Virulence factor of *Clostridium perfringens*. Rev. Infect. Dis., 1, 254-260, 1979.

Willis, A. T.: Anaerobic Bacteriology: Clinical and Laboratory Practice, 3.ª ed. Butterworths, Londres, 1977.

Willis, A. T.; Jones, P. H., y Reilly, S.: Management of Anaerobic Infections: Prevention and treatment. Research Studies Press. Chichester, 1981.

Capítulo 35

Anaerobios no esporulados

José Angel García-Rodríguez

El conocimiento del papel desempeñado por las bacterias anaerobias en la patología infecciosa humana ha estado limitado, hasta época muy reciente, a su intervención en el desarrollo del tétanos; botulismo; gangrena gaseosa; enteritis necrotizante y toxiinfección por *Clostridium perfringens*, y actinomicosis. Sin embargo, estas bacterias intervienen produciendo distintos procesos con inusitada frecuencia por mecanismos no debidos a exotoxinas. Este hecho que fue puesto de manifiesto, hace casi un siglo, por Veillon y Zuber adquirió actualidad nuevamente en los años sesenta merced a otros dos autores de habla francesa: Beerens y Tahon-Castel. A partir de este momento se ha desarrollado una tecnología microbiológica que ha permitido aislar e identificar las bacterias anaerobias y, por tanto, permitir, de una forma adecuada, conocer su importancia clínica.

Aunque existen numerosísimos géneros y especies de bacterias anaerobias, solamente algunas tienen interés médico, bien por motivos ecológicos o clínicos. De acuerdo con sus características, los géneros que engloban bacterias importantes para el hombre son:

Bacilos grampositivos esporulados:
- *Clostridium* (cap. 34).

Bacilos grampositivos no esporulados:
- Regulares.
  - *Lactobacillus**.
- Irregulares.
  - *Arachnia*.
  - *Propionibacterium*.
  - *Eubacterium**.
  - *Bifidobacterium*.

Bacilos gramnegativos.
- *Bacteroides*.
- *Fusobacterium*.
- *Mobiluncus*.
- *Wolinella*.

Cocos grampositivos:
- Estreptococos anaerobios.
- *Peptostreptococcus*.

Cocos gramnegativos:
- *Veillonella*.

A excepción de los géneros señalados con asterisco, que tienen más importancia ecológica que médica, el resto aparece implicado de una forma u otra en procesos patológicos. No obstante, en este capítulo no se tratarán todos ellos, ya que, aparte que algunos se consideran en otros capítulos, sólo se tratará de aquellos que producen infecciones inespecíficas, generalmente endógenas, hospitalarias y mixtas.

El género *Lactobacillus* está situado en la sección 14 que comprende los bacilos grampositivos, no esporulados, regulares. Son microaerófilos, aunque algunos son anaerobios en su aislamiento. Algunas especies constituyen parte de la flora bucal, intestinal y vaginal del hombre.

El género *Arachnia* incluye bacilos grampositivos no esporulados y difteroides. Son facultativos, aunque crecen mejor en anaerobiosis, y se parecen mucho a los géneros *Actinomyces* y *Propionibacterium*. Forman parte de la flora de la cavidad oral y se aíslan en caso de actinomicosis y canaliculitis lacrimal. Como el resto de bacilos grampositivos no esporulados, que se tratan a continuación, están situados en la sección 15 del Manual Bergey.

El género *Propionibacterium* comprende bacilos grampositivos pleomórficos, anaerobios o aerotolerantes. Engloba varias especies que forman parte de la flora de la piel, tubo digestivo y tracto genitourinario. La especie más importante es *Propionibacterium acnes*, que es un contaminante habitual de hemocultivos y de otros humores obtenidos por punción de la piel; no obstante, en ocasiones, puede causar una bacteriemia verdadera y producir infecciones en distintas partes del organismo. *P. granulosum* y *P. pavidum* se aíslan con más rareza.

Eubacterium lentum es la especie clínicamente más importante del género *Eubacterium*, que se aísla de procesos infecciosos de diversa localización. Esta especie y otras constituyen parte de la flora del hombre, fundamentalmente a nivel fecal y bucal. Este género engloba bacilos grampositivos anaerobios estrictos, que pueden ser regulares o polimorfos.

Los componentes del género *Bifidobacterium* tienen un gran interés ecológico al formar parte de la flora del hombre, fundamentalmente de la fecal. De todas las especies, la única que se ha señalado como patógena es *B. dentium*. Los miembros de este género son bacilos, que pueden tener un gran polimorfismo, grampositivos, anaerobios estrictos o aerotolerantes.

El género *Bacteroides* es, sin duda, el más importante desde el punto de vista clínico. Son bacilos gramnegativos, móviles o inmóviles, que forman parte de la flora de distintas partes del organismo humano. De todas las especies, las

aisladas más a menudo, fundamentalmente de procesos patológicos abdominales, son *Bacteroides* del grupo *fragilis*, que engloba seis especies: *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *B. distasonis*, *B. ovatus* y *B. uniformis*, de las que las dos primeras son las más importantes.

El grupo de *Bacteroides* pigmentados, anteriormente englobados en una especie, han sido clasificados en varias. Constituyen parte de la flora normal y algunos actúan como oportunistas. Las especies que tienen interés clínico son *B. asaccharolyticus*, *B. gingivalis*, *B. intermedius*, *B. corporis*, *B. melaninogenicus*, *B. loeschii* y *B. denticola*.

Otras especies de interés entre las sacarolíticas sensibles a la bilis son: *B. bivius*, *B. disiens*, *B. oris*, *B. buccae*, *B. oralis*, *B. veroralis* y *B. buccalis*.

Algunas especies requieren formato y fumarato como *B. urealyticus*, que se aísla en distintas infecciones, y *B. gracilis* a partir de infecciones bucales.

Del género *Fusobacterium* destacan las especies *F. nucleatum*, que produce infecciones en boca, aparato respiratorio, abdomen y tracto genital femenino, y *F. necrophorum*, que da lugar a infecciones diseminadas a partir fundamentalmente de amigdalitis.

El género *Mobiluncus* ha sido descrito recientemente, junto con otros anaerobios, por sobrecrecimiento y disminución de la flora láctica vaginal. Se le ha implicado como agente causal de la vaginosis bacteriana o vaginitis inespecífica.

Los cocos grampositivos anaerobios han sufrido grandes cambios taxonómicos. Hoy se sitúan en cuatro géneros: *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Todos ellos forman parte de la flora normal de distintas localizaciones. En el género *Peptococcus* solamente se sitúa, en la actualidad, una sola especie: *P. niger*. Del género *Peptostreptococcus* tienen interés *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*, *P. magnus*, *P. micros*, *P. prevotti* y *P. tetratius*, y del género *Streptococcus* sólo lo tiene *S. morbillorum*.

El género *Veillonella* tiene interés fundamentalmente ecológico. *V. parvula*, *V. atypica* y *V. dispar* se aíslan de la boca; *V. parvula* también se encuentra en el sistema intestinal y *V. dispar*, en el respiratorio. *Veillonella parvula* es la única especie que se aísla en clínica.

ECOLOGIA

Los gérmenes anaerobios no esporulados están ampliamente distribuidos en la naturaleza. En lo que respecta al hombre, forma como huésped un sistema equilibrado con su microflora, de la cual los anaerobios constituyen un componente fundamental. El citado equilibrio es tenazmente mantenido y sólo es modificado en ocasiones por medidas drásticas, que a menudo provocan graves consecuencias.

Los nichos ecológicos principales donde asienta la flora anaerobia son:

Boca. Posee numerosos «micronichos» a partir de los cuales se han llegado a aislar unas 50 especies anaerobias; el surco gingival es el área más poblada. Los cocos grampositivos son los más frecuentes, seguidos por bacilos grampositivos y gramnegativos.

Aparato genitourinario. La microflora vaginal es la más importante y en ella se han identificado más de 20 especies distintas. De los anaerobios, los bacilos grampositivos y los cocos anaerobios son los más habituales.

Tubo gastrointestinal. Es el área donde el predominio de estos microorganismos es más notorio. El ciego es la zona de máxima concentración, con recuentos superiores a 10^9 gérmenes/g. En heces, el recuento es superior a 10^{11} gérmenes anaerobios/g y constituye más del 90 % de la flora fecal total, y predominan las especies pertenecientes a los géneros *Bacteroides* y *Bifidobacterium*. De todas formas, numerosos factores controlan e influyen en esta flora, factores entre los que destacan jugo gástrico, peristaltismo intestinal, secreciones intestinales, presencia de inmunoglobulinas, interacciones bacterianas, medio ambiente y dieta, y, sobre todo, alteraciones anatómicas o funcionales del tubo digestivo.

La importancia ecológica de la flora, sobre todo intestinal, se puede deducir del análisis de su intervención en el metabolismo de los ácidos biliares, de aminoácidos, vitaminas (como B_{12} y ácido fólico), fármacos, ácidos grasos volátiles, etc. Debe destacarse su posible responsabilidad en algunos tipos neoplásicos del intestino grueso (*Clostridium paraputrificum*).

BIOLOGIA

Las bacterias anaerobias presentan numerosos aspectos biológicos en común con las aerobias y las facultativas, pero su relación con el oxígeno molecular es lo que las diferencia fundamentalmente.

Para trabajar con los anaerobios en el laboratorio, es preciso obtener unas condiciones de anaerobiosis que se basan en la aplicación de métodos físicos (p. ej., vacío), químicos (añadiendo sustancias reductoras, como la cisteína, u otras sustancias) o biológicos (como la asociación con aerobios que consumen el O_2), o todos ellos. Prácticamente, cualquier técnica de anaerobiosis suele incorporar 2 ó más tipos de métodos.

La atmósfera de anaerobiosis se puede lograr por varios métodos, cuya finalidad es doble: eliminar o reducir la tensión de oxígeno y mantener el ambiente sin oxígeno o a la menor concentración posible.

Desde que Pasteur hervía los cultivos líquidos para disminuir la tensión de O_2, la metodología ha evolucionado, hasta disponer en la actualidad de unos procedimientos cuyo rendimiento es claramente satisfactorio. Algunos son sofisticados y necesitan un equipo complejo, como es la cámara de anaerobios o el sistema PRAS, con medios prerreducidos y esterilizados, que pueden ser muy útiles, sobre todo en el trabajo con bacterias muy oxígeno-lábiles. Otros sistemas, como el de la jarra de anaerobios, son más sencillos y más fáciles de manejar y consiguen resultados finales similares en la recuperación de anaerobios de importancia clínica. En las jarras se produce CO_2 y H_2 que por medio de un catalizador se une con O_2 y forma H_2O.

Si bien la mayoría puede detectarse en los cultivos a las 18-36 horas (prácticamente como los aerobios), hay algunas especies, como *Bacteroides nodosus* o *Eubacterium lentum*, que pueden tardar varios días en crecer en medios habituales. Esto obliga a alargar el estudio rutinario e incluir técnicas de diagnóstico rápido que haga rentable su estudio en clínica.

La vía metabólica utilizada por estos gérmenes permite la liberación de gran número de sustancias de metabolismo intermediario, entre las que cabe destacar los ácidos grasos volátiles de cadena corta, como el ácido butírico, valérico, etc., de olor desagradable y fácilmente detectable, y que facilitan en alguna manera el diagnóstico.

PATOGENIA

Determinantes patogénicos

Dado que estas bacterias son oportunistas, su capacidad patógena depende no sólo de su propia virulencia, sino también de las circunstancias favorecedoras por parte del huésped, de su asociación con otras bacterias y del empleo de antibióticos a los que son resistentes. De estos factores destacan:

Poder agresivo del microorganismo

En este apartado deben considerarse:

Factores ligados a la estructura anatómica bacteriana. *B. fragilis*, por ejemplo, dispone de una cápsula, de naturaleza polisacárida, que protege al microorganismo de la fagocitosis y de la capacidad bactericida del suero, y es un importante factor de virulencia. Ligado a la pared bacteriana, en todos los bacilos gramnegativos, así como en *Veillonella*, se localiza el lipopolisacárido endotóxico con sus propiedades biológicas, entre las que destaca la coagulación intravascular diseminada. Cabe señalar que en la fracción central del lipopolisacárido de las bacterias faltan el 2-ceto-3-desoxioctanato y la heptosa, circunstancia por la que la endotoxina de estos microorganismos es de las menos activas biológicamente.

Factores de naturaleza enzimática. Faltan pruebas definitivas para considerar que la carga enzimática sea responsable de la patogenicidad bacteriana, pero *in vitro* se ha demostrado la producción de heparinasa por *Bacteroides* y *Peptoestreptococcus*, fibrinolisina, β-lactamasas, lipasa, proteasas y colagenasa por diversas especies de *Bacteroides*, sobre todo *B. fragilis*, y fosfatasa y ADNasa por numerosas especies de cocos y bacilos anaerobios; por ejemplo, *B. fragilis*, además de las enzimas citadas, produce hemolisinas, hialuronidasa, condroitinsulfatasa y neuraminidasa.

Al poder necrótico de un gran número de especies se debe la entrada en circulación de productos de desintegración tisular, acción que se intensifica en las infecciones polimicrobianas, que son las más habituales.

Circunstancias favorecedoras por parte del huésped

Al ser estas bacterias inofensivas per se o poco patógenas, requieren una serie de modificaciones orgánicas para favorecer o desencadenar su acción. Estas circunstancias pueden englobarse en tres epígrafes:

1. Procesos que disminuyen el Eh, como la isquemia y la necrosis.
2. Alteraciones de las mucosas que sirven de barrera frente a la flora comensal.
3. Caída de defensas locales y generales.

Muchos de los procesos a los que se hace referencia no encajan precisamente en uno de estos tres apartados, al estar afectado más de uno.

Quizá la mayor defensa del huésped frente a las infecciones por anaerobios sea su alto potencial de óxido-reducción (Eh) de +120 a +150 mV. Una caída de este potencial permitiría el desarrollo de anaerobios, incluso en tejidos muy oxigenados, tales como piezas dentarias y pulmón. Por otro lado, en condiciones de anaerobiosis, el sistema granulocítico fagocitario bactericida no funciona eficazmente. Este descenso de Eh podría obtenerse por lesiones en los tejidos (necrosis), alteraciones circulatorias (isquemias) o crecimiento de bacterias facultativas, aerobias o anaerobias, o ambas, en la lesión, o todas estas anormalidades.

Al parecer, la toxicidad del oxígeno sobre los anaerobios se debe a la producción de radicales superóxido (O_2^-). Estos radicales son letales para los anaerobios extremadamente sensibles al oxígeno, pero no para los intermedios o aerotolerantes, que producen superóxido-dismutasa transformando los radicales O_2^- en H_2O_2. La mayoría de las especies patógenas son relativamente aerotolerantes, pues soportan el O_2 bastantes horas y producen superóxido-dismutasa. La producción de esta enzima sería, por lo tanto, un factor de virulencia, ya que permite a los anaerobios patógenos sobrevivir en tejidos oxigenados hasta que se establecen las condiciones propicias para el crecimiento.

Por disminución del aporte sanguíneo y, por tanto, del Eh, pueden favorecer la infección las siguientes circunstancias: afecciones vasculares, arteriosclerosis, inyecciones de adrenalinas, el frío, shock, colapso, edemas y las curas presionadas. También disminuyen el Eh los traumatismos, la cirugía, los cuerpos extraños, el crecimiento de facultativos y aerobios, y la producción de gas a causa de los microorganismos.

La falta de integridad de la mucosa intestinal puede aparecer en síndromes entéricos, cirugía, traumatismos, hemorragias digestivas y lesiones primitivas intestinales, como la enfermedad de Crohn.

Los traumatismos, especialmente los quirúrgicos del aparato digestivo, y abortos alteran la barrera mucosa debilitando las defensas normales del huésped. Aquí, los anaerobios crecen muy bien por el daño tisular y la necrosis, y son muy frecuentemente el origen de las infecciones por estas bacterias. La sola intervención quirúrgica, sobre todo a nivel abdominal, es quizás el factor predisponente más importante para la infección por anaerobios no esporulados, debido a que crean unas condiciones favorables para la invasión de los tejidos por estos gérmenes. En el aparato respiratorio pueden favorecer la infección la toracotomía y los traumatismos torácicos.

En resumen, la cirugía puede actuar no sólo como causa favorecedora, sino que puede ser la circunstancia desencadenante más importante y frecuente por parte del huésped.

En este mismo apartado pueden incluirse las necrosis, daños tisulares, como las úlceras de decúbito, los traumatismos, los cuerpos extraños y el sondaje de vías urinarias.

Las enfermedades malignas, tanto los tumores sólidos como las leucemias y linfomas, favorecen asimismo la infección.

El tratamiento con corticoides, inmunodepresores, antibióticos y citostáticos convierte a los pacientes en enfermos de alto riesgo para este tipo de infección y otros.

Entre los factores debilitantes generales que pueden favorecer la infección están enfermedades caquectizantes, etilismo descompensado, estados carenciales, infarto de miocardio, artritis reumatoide, cirrosis, diabetes y estados hiperglucémicos, arterioesclerosis, ictus, anemias (falciforme, perniciosa, hemolítica y aplásica), trasplante renal, insuficiencia renal grave con hemodiálisis, amiloidosis, gota, sífilis terciaria, tuberculosis activa, gangrena no traumática, osteomielitis y radioterapia.

Sinergismo bacteriano

Los patrones clásicos de infección monomicrobiana, establecidos por Pasteur y más tarde refrendados por Koch en sus postulados, sólo pueden justificar un número determinado y pequeño de infecciones por anaerobios. En muchas ocasiones, como ocurre en otros procesos aerobios, hay que recurrir para su explicación a modelos plurimicrobianos (de varias bacterias con sensibilidades variables al oxígeno) y potenciales de patogenicidad no bien definidos.

La asociación con otras bacterias de igual o distinto tipo respiratorio puede favorecer o provocar el inicio de la infección. Esta conducta cooperativista de «sinergismo» sería importante:

1. Por bajar el potencial de óxido-reducción al consumirse el O_2 por las bacterias asociadas.
2. Por proporcionar sustancias necesarias para el desarrollo de determinados microorganismos, como en el caso de la asociación de *B. melaninogenicus* con bacterias productoras de vitamina K.
3. Por producir una serie de metabolitos tóxicos para determinadas enzimas necesarias para el huésped, con lo que se potencia la infección.
4. Porque alguna de las bacterias de la asociación destruya antibióticos activos frente a otras.

Se ha podido demostrar que *Bacteroides fragilis* es totalmente capaz de proteger a *F. necrophorum* de la acción de la penicilina G *in vivo*, grado de protección que está determinado por los niveles de resistencia a la penicilina por parte de *B. fragilis*.

Empleo de antibióticos

Los aminoglicósidos, antibióticos ampliamente utilizados en el medio hospitalario, suelen ser ineficaces frente a los anaerobios, dado que para la penetración en la bacteria necesitan el O_2.

Excepto para *Bacteroides* del grupo *fragilis* y algunos otros *Bacteroides*, la penicilina G es muy activa. No obstante existen otras especies resistentes a este antibiótico. Los otros β-lactámicos (aminopenicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y temocilina) tienen un comportamiento semejante, a excepción de las carboxipenicilinas, ureidopenicilinas, cefamicinas y moxalactam.

El diferente comportamiento frente a los antibióticos de las bacterias anaerobias puede tener distintas repercusiones patogénicas, que a continuación se señalan:

Selección de bacterias resistentes durante el transcurso de una terapia antibiótica. Ocurriría especialmente con aminoglicósidos, aunque también con β-lactámicos y polipéptidos.

Efecto de la profilaxis antibiótica sobre los anaerobios. Las principales implicaciones del uso profiláctico de los antibióticos surgen en la cavidad bucal y vías respiratorias superiores, aparato genital y tubo gastrointestinal. Es precisamente a este nivel donde la quimioprofilaxis de la cirugía intestinal tendrá las más importantes consecuencias.

Cuando administramos uno o varios agentes antimicrobianos, la flora intestinal responderá en relación con el espectro de acción del fármaco y con la resistencia de las bacterias que constituyen esta flora. Lógicamente, la administración profiláctica de antimicrobianos que son ineficaces frente a anaerobios (p. ej., aminoglicósidos) favorece el desequilibrio en favor de las cepas resistentes.

Aumento de resistencia. Aunque en general las especies de *Bacteroides* y *Fusobacterium* tienen un patrón de sensibilidad a los antibióticos bastante constante, la aparición de resistencias es un hecho, si bien el mecanismo, control y frecuencia de estas resistencias no se conocen bien.

Se ha demostrado la presencia de β-lactamasas en varias especies de *Bacteroides*. En la actualidad se aíslan cepas resistentes a tetraciclinas, lincomicina y eritromicina, clindamicina, cefamicinas y moxalactam. Se ha demostrado transmisión de plásmidos de resistencia, entre distintas especies de *Bacteroides* del grupo *fragilis* y entre *Escherichia coli* y estas especies.

Mecanismo patogénico

El mecanismo de infección por estas bacterias, de forma total o en parte, tiene lugar del modo siguiente:

Infección local

Se produce en una zona próxima a su «hábitat» natural. Estas bacterias forman parte de la flora habitual de las vías respiratorias superiores, tubo digestivo, aparato genital femenino (vulva y vagina), uretra masculina y piel. Las infecciones generalmente surgen a partir de estas localizaciones, siendo, por tanto, habitualmente de origen endógeno. Sólo algunas infecciones por anaerobios reconocen un origen exógeno, entre las que caben señalar: las tres formas clínicas de botulismo, el tétanos, la toxiinfección alimentaria y la enteritis necrotizante por *C. perfringens*, la gangrena gaseosa y fascitis y celulitis difusas, y algunos cuadros de origen traumático en que se inoculan bacterias exógenas, como las mordeduras.

En condiciones normales no provocan proceso infeccioso alguno; para que éste se desarrolle, es necesario que aparezcan, como se ha dicho, en el huésped condiciones que permitan, en primer lugar, la invasión de áreas distintas a su localización habitual, pero próximas a ella (esto ocurre cuando se altera la integridad de las mucosas que los albergan, de forma espontánea o provocada por cirugía o traumatismos). Además es necesario que existan circunstancias que favorezcan su multiplicación, especialmente una disminución del potencial de oxidorreducción (Eh) debido a la

deficiente oxigenación por existencia de isquemia, necrosis o cuerpos extraños. El descenso del Eh determina una fagocitosis inefectiva y una alteración de la destrucción intraleucocitaria de las bacterias. La caída de las defensas locales y generales desempeña también un importante papel. En estas circunstancias tienen capacidad de multiplicarse en los tejidos y podrían lesionar, gracias a la producción de agresinas o exotoxinas (clostridios), liberación de endotoxinas, posesión de cápsula (inducción para producción de pus), crecimiento en anaerobiosis (en estas circunstancias, las defensas del huésped funcionan mal y los antibióticos que requieren oxígeno o un crecimiento activo no actúan) y resistencia a antimicrobianos, en especial a aminoglicósidos y algunos β-lactámicos (tabla 35-1).

La infección local se traduce por la aparición de un absceso con pus abundante cremoso, sin color definido, que suele ser maloliente. Son gérmenes piógenos, y la presencia de un determinado anaerobio en un cuadro infeccioso está en relación con la localización de éste. Así, por ejemplo, en las infecciones subdiafragmáticas, *B. fragilis* y especies afines son los microorganismos más frecuentemente implicados porque tienen su «hábitat» en el intestino grueso. Algo semejante ocurre con *B. bivius* y las infecciones obstetricoginecológicas.

Debido a su origen, en esta primera fase las infecciones suelen ser mixtas y polimicrobianas. Se aíslan diversas bacterias de igual o distinto tipo respiratorio y se han demostrado diversos tipos de relaciones sinérgicas entre los microorganismos que se encuentran en estas infecciones. Sin embargo, no es raro encontrar infecciones producidas sólo por anaerobios. La selección del germen que produce la infección suele hacerse en estadios siguientes (los hemocultivos son rara vez polimicrobianos).

La localización inicial puede ser la única manifestación de la infección que generalmente evoluciona hacia la cronicidad. El paso a otras fases es, a menudo, un índice de gravedad. Las formas metastásicas y septicémicas pueden producir rápidamente la muerte.

② *Extensión de la infección*

Puede hacerse a territorios vecinos (como ocurre en las diseminaciones locales) o a lugares alejados por diseminación hemática. Esta puede ser de naturaleza bacteriémica o septicémica.

Los miembros de la familia *Bacteroidaceae* con capacidad patógena tienen gran tendencia a invadir la sangre por un mecanismo tromboembólico u otro tipo de alteraciones circulatorias, tales como coagulación intravascular y aumento de la permeabilidad del aparato digestivo en estados preagónicos y de shock.

El mecanismo preciso de la enfermedad tromboembólica, que aparece en las infecciones por estas bacterias, aunque reproducible en el laboratorio, no se conoce perfectamente. Pueden intervenir enzimas como la heparinasa, sustancias relacionadas con los mucopolisacáridos, formas L bacterianas, polisacáridos y el lípido A de la pared celular, que, cuando se inyectan por vía intravenosa al ratón, producen una aceleración de la coagulación.

La presencia de estos microorganismos en sangre es perfectamente explicable, ya que, por un lado, se liberan formas bacilares virulentas de manera constante a partir del foco infeccioso y, por otro, los anaerobios pueden crecer en tejidos frescos y vivos, debido a que éstos tienen factores reductores o protectores de tipo químico o enzimático.

Tabla 35-1 Patogenia de la infección por anaerobios

Traumatismo
↓
Shock y tejidos desvitalizados
↓
Perfusión tisular disminuida
↓
Descenso en la oxigenación
↓
Disminución del Eh
↓
Fagocitosis ineficaz y disminución de la destrucción intraleucocitaria
↓
Multiplicación bacteriana

Tomado de Collee, 1985.

Metástasis

La diseminación por trombos sépticos o por el simple paso de bacterias a la sangre puede condicionar la presencia de abscesos de evolución tórpida en el pulmón, cerebro, meninges, articulaciones, hígado, etc.

Acción patógena

Si excluimos la actinomicosis y los cuadros debidos a clostridios exotóxicos, el resto se caracterizan por ser inespecíficos, endógenos, en general polimicrobianos y habitualmente de desarrollo hospitalario. Son infecciones con marcada tendencia a provocar abscesos o necrosis, y son de curso en general lento. Experimentalmente se ha demostrado que aparecen de forma tardía.

El pus suele ser maloliente a causa de los ácidos grasos de cadena corta (hasta siete átomos de carbono), producidos por estas bacterias en su metabolismo. La extensión se hace por contigüidad o por vía hematógena.

Los cuadros más importantes aparecen relacionados en la tabla 35-2. De ellos cabe destacar:

1. Infecciones del sistema nervioso central (SNC), fundamentalmente los abscesos cerebrales, en que los anaerobios están implicados aproximadamente en el 90 %. Con menos frecuencia se aíslan en abscesos subdurales (50 %). Pueden surgir en cultivo puro o mixto. Las bacterias anaerobias usualmente aisladas son: *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp., etc. También intervienen bacterias facultativas y aerobias, siendo importantes los estreptococos microaerófilos. Estas infecciones reconocen su origen en focos contiguos (sinusitis, otitis e infecciones dentales crónicas), procesos a distancia o bien traumatismos cerebrales (heridas penetrantes y cirugía).

2. Infecciones pleuropulmonares: neumonitis, neumonía necrotizante, absceso de pulmón con o sin empiema. Se originan, sobre todo, por aspiración de secreciones nasobucofaríngeas o del contenido gástrico y menos frecuentemente

Tabla 35-2. Procesos infecciosos de posible etiología por bacterias anaerobias

Infecciones del SNC
Abscesos cerebrales
Empiemas extradurales y subdurales
Meningitis
Infecciones pleuropulmonares
Neumonitis
Neumonía necrotizante
Absceso de pulmón
Empiema
Infecciones intraabdominales
Abscesos
Peritonitis
Infección de herida
Colecistitis
Abscesos hepáticos
Abscesos subfrénicos
Apendicitis
Infecciones obstetroginecológicas
Abscesos vulvovaginales
Salpingitis y peritonitis pélvica
Abscesos pélvicos y tuboováricos
Endometritis
Aborto séptico
Infecciones de heridas postoperatorias
Vaginosis
Bacteriemias
Infecciones ORL
Sinusitis
Otitis
Mastoiditis
Infecciones orofaríngeas
Gingivitis
Angina de Vincent
Angina de Ludwig
Periodontitis
Otros cuadros
Osteomielitis, artritis, abscesos de distintas localizaciones, úlceras de decúbito, gangrena de Meleney, etc.

por extensión de procesos extrapulmonares o a distancia, toracotomías o heridas penetrantes en tórax. A veces existe una neoplasia subyacente.

Las bacterias anaerobias intervienen aproximadamente en el 90 % de los casos, siendo los bacteroides pigmentados, *Fusobacterium nucleatum* y *Peptostreptococcus* las especies y géneros más frecuentemente aislados. Los estreptococos microaerófilos desempeñan también un importante papel. *Bacteroides* del grupo *fragilis* se aíslan en raras ocasiones, a excepción de que el origen sea infradiafragmático.

3. Infecciones intraabdominales: abscesos, peritonitis, infección de herida, colecistitis, abscesos hepáticos, etc. Se producen de forma habitual por soluciones de continuidad del tubo gastrointestinal, en especial si inciden en colon o recto y habitualmente por cirugía. Son en general infecciones mixtas y los anaerobios aislados con mayor frecuencia son *Bacteroides* del grupo *fragilis* (sobre todo *B. fragilis* y *B. thetaiotaomicron*). *Escherichia coli* es el facultativo más frecuentemente recuperado. La participación de los anaerobios en esta patología es variable de acuerdo con el tipo de proceso, pero puede llegar al 95 % en los casos de peritonitis y abscesos. En nuestra experiencia, y valorando distintos tipos de infección, la incidencia es del 51,6 %.

4. Infecciones del tracto genital femenino: Incluyen abscesos vulvovaginales, salpingitis y peritonitis pélvica, abscesos pélvicos y tuboováricos, endometritis, aborto séptico e infecciones de heridas postoperatorias. Las bacterias anaerobias involucradas suelen ser *Bacteroides* y *Peptostreptococcus*. Entre los primeros desempeñan un importante papel *B. bivius* y *B. disiens*, y, entre los aerobios y facultativos, *Escherichia coli* y estreptococos.

La frecuencia de aislamientos de bacterias anaerobias oscila de un 90 %, en los abscesos pélvicos y tuboováricos, a un 50 %, en las salpingitis y la peritonitis pélvica, en que también son importantes *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y micoplasmas. Los agentes etiológicos, salvo los productores de ETS y los estreptococos del grupo A, son los mismos que integran la flora vaginal y alcanzan poder patógeno cuando se rompe dicha barrera. La cirugía, tumores, aborto, etc. actúan como desencadenantes. Estas bacterias parece que intervienen en la génesis de la vaginosis bacteriana o vaginitis inespecífica.

5. Bacteriemias: Su frecuencia, en otros países, se sitúa entre el 5 y el 15 %, y en España probablemente sea mucho menor. Los agentes etiológicos pertenecen fundamentalmente a los géneros *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* y *Clostridium*, por este orden. De todas las especies, *B. fragilis* ocupa el sexto lugar de todas las bacteriemias, el cuarto de las hospitalarias y el segundo o tercero de las producidas por gramnegativos. Por orden de frecuencia, la puerta de entrada puede ser gastrointestinal, genital femenina (sobre todo las infecciones obstétricas), piel y tejidos blandos, aparato respiratorio y cavidad oral.

6. Otros procesos: Las bacterias anaerobias no esporuladas pueden participar en muchas más infecciones, si bien con menor frecuencia. No obstante, es necesario tenerlos en cuenta por motivos diagnósticos y terapéuticos. De todos ellos, goza de una gran actualidad la enfermedad periodontal.

DIAGNOSTICO

Se sigue el esquema ya señalado para otro tipo de procesos.

Sospecha → Recogida → Transporte { Técnicas rápidas de diagnóstico; Siembra; Incubación; Aislamiento; Identificación }

En todas las etapas citadas aparecen diversos problemas que se pueden resumir en dos aspectos:

a) Lentitud en el procesamiento diagnóstico (a veces más de 7 días).

b) Déficit en los diagnósticos (menos infecciones de las que realmente existen).

No es extraño, por ello, que las tendencias sobre investigación en este campo se dirijan a reducir el tiempo necesario para la identificación, disminuir el costo de material y la introducción de técnicas más sensibles.

Sospecha del proceso

La mayor incidencia de cuadros por anaerobios se encuentra en los servicios de obstetricia y ginecología, cirugía digestiva, odontología, etc., y su aparición está favorecida por una serie de factores que se deben valorar como antecedentes.

Datos clínicos de sospecha. Clínicamente, estos procesos suelen ser poco característicos, con signos comunes a otros cuadros infecciosos. Sin embargo, la aparición de algunos síntomas permite sospecharlos. En primer lugar, la aparición de un exudado o descarga purulenta, a veces serohemorrágica o achocolatada, y de olor pútrido y nauseabundo debe sugerir la presencia de anaerobios. El «hábitat normal» de estas bacterias (especialmente mucosas) es el punto de partida para la infección. Por tanto, la aparición de colecciones purulentas próximas a estas localizaciones nos debe hacer presumir la intervención de aquéllas. La presencia de tejidos necrosados con esfacelos, anfractuosidades, etc. constituye un factor favorecedor y de desarrollo de la infección anaerobia, en la cual las bacterias van a encontrar unas condiciones óptimas para su persistencia y crecimiento. La sospecha de endocarditis o bacteriemias se establece con hemocultivos de repetición negativos (tabla 35-3).

Habrá que considerar y no descartar las infecciones por anaerobios, especialmente en enfermos con procesos debilitantes o tratados con aminoglicósidos, o ambos.

Los bacteroides pigmentados producen un pigmento que puede ponerse de manifiesto al someter los apósitos de cura y los productos patológicos a la luz UV, bajo la cual dan una fluorescencia roja.

Recogida y transporte

Una primera consideración se refiere a la recogida de muestras válidas para el estudio bacteriológico de los anaerobios. Se evitará su contaminación por la flora comensal del organismo, en el cual estas bacterias son predominantes, especialmente en las membranas mucosas.

No hay problema cuando se trata de recoger líquidos normalmente estériles. Ahora bien, para el estudio de las infecciones pleuropulmonares, las muestras deben recogerse por punción transtraqueal, pleural o pulmonar directa, evitando de esta forma la contaminación del esputo por la abundante flora de faringe y boca.

En las infecciones urinarias, la muestra se obtiene por punción suprapúbica. En abscesos, una vez desinfectada la superficie, la muestra se toma profundamente con jeringuilla. En este caso se desaconseja el empleo de hisopos y no se tomará la parte superficial del pus, que puede estar contaminada por la flora comensal.

Un segundo aspecto se refiere al transporte del material. Las bacterias tienen una sensibilidad desigual al oxígeno; así, mientras algunas tienen una resistencia considerable (la mayoría de las de importancia clínica), otras son muy sensibles a él. Por ello es necesario mantener las muestras en un ambiente adecuado y enviarlas rápidamente al laboratorio.

Tabla 35-3. Signos clínicos de infección anaerobia

Olor fétido de la muestra
Localización de la infección en la proximidad de una superficie mucosa
Necrosis tisular, gangrena, formación de pseudomembranas
Gas en los tejidos
Endocarditis con hemocultivos reiteradamente negativos
Terapéutica previa con antibióticos aminoglicósidos
Tromboflebitis séptica
Infecciones consecutivas a mordeduras
Exudados con fluorescencia a la luz ultravioleta
Presencia de «granos de azufre» (actinomicosis) en los exudados
Cuadro clínico sugestivo de infección anaerobia (aborto séptico, infección poscirugía abdominal, etc.)
Sintomatología clínica básica (actinomicosis, mionecrosis por clostridios, etc.)

Modificado de Finegold, 1977.

Disponemos de varios procedimientos:

1. «La propia jeringuilla», a la que, después de tomar el exudado purulento por aspiración y eliminar posteriormente cualquier resto de gas, se cubre con un tapón de goma.
2. «Método de la minijarra», en la que el oxígeno es eliminado por una catálasis entre sulfato de cobre acidificado y una esponja de hilo de acero. Sirve para el transporte principalmente de tejidos.
3. «Sistema de transporte en frascos con una atmósfera de CO_2 libre de O_2», que contienen una pequeña cantidad de medio de cultivo con resazurina como indicador del potencial redox.
4. «Transporte con hisopo» en un medio semisólido prereducido; normalmente se emplea una modificación del medio de Cary y Blair.

Diagnóstico bacteriológico

Por último, es necesario considerar el diagnóstico bacteriológico en sí. Normalmente, las muestras se siembran en medios apropiados y se incuban para estudio comparativo en aerobiosis, anaerobiosis y microaerofilia. Las colonias que crecen en anaerobiosis se resiembran y se comprueba el tipo respiratorio. Las bacterias aisladas se identifican bioquímica y cromatográficamente y se comprueba su sensibilidad a los antibióticos.

El problema se plantea al analizar si estos estudios son útiles clínicamente, pues la investigación completa puede requerir más de 4 días. Por esto, se han establecido *técnicas rápidas* que permiten identificar de una forma presuntiva, pero con un porcentaje elevado de seguridad, estas infecciones.

Coloración de Gram

Debemos resaltar la necesidad de realizar una coloración de Gram del producto patológico directo como orientación acerca de la presencia de células de respuesta inflamatoria y de elementos bacterianos, circunstancias ambas que pueden ayudar en el procesado posterior y en el tratamiento. Por lo que hace referencia a la presencia de elementos bacterianos, el microbiólogo deberá investigar la *carga bacteriana* en orden a la interpretación posterior. La morfología y agrupación son a veces muy orientadoras. En productos pa-

tológicos, el género *Bacteroides* (especialmente del grupo *fragilis*) puede confundirse con cualquier enterobacteria por su polimorfismo. Algunos bacteroides aparecen generalmente de forma cocobacilar, difícil de detectar. *Fusobacterium*, suele presentarse como elementos globulosos esferoides o formas fusiformes (*F. nucleatum*). *Peptoestreptococcus*, así como *Clostridium* y *Actinomyces*, presentan aspectos peculiares.

Fluorescencia roja del producto patológico

Constituye una característica propia que denota la presencia de bacteroides pigmentados.

Cromatografía gas-líquido directa

La cromatografía gas-líquido del producto patológico nos permite conocer si en éste existen bacterias anaerobias. Esta técnica se basa en la producción por parte de los gérmenes, tanto en los cultivos como en los productos patológicos, de ácidos grasos volátiles que se puedan detectar. Estas sustancias no son producidas por las bacterias aerobias o facultativas, o ambas. Es un procedimiento rapidísimo, pues se puede comunicar la presencia de anaerobios en menos de 1 hora.

Otras técnicas rápidas

Impedancia, calorimetría, polarografía, etc. Detectan crecimiento bacteriano en los cultivos y suelen ser especialmente útiles en el estudio de anaerobios por la menor velocidad de crecimiento de éstos respecto a los facultativos. Se trata de técnicas que están en estudio, y hoy por hoy no aportan la especificidad suficiente para utilizarlas en el diagnóstico rutinario.

Inmunofluorescencia directa. Se ha intentado para detectar en productos patológicos *Bacteroides* del grupo *fragilis* y *Fusobacterium*, pero no se ha logrado estandarizar suficientemente, dadas las lagunas existentes en el conocimiento del mapa antigénico de las bacterias.

Siembra-aislamiento. La diferencia fundamental con el procesamiento de aerobios y facultativos se refiere al medio de cultivo y atmósfera de incubación.

El medio base que se suele emplear es el agar-brucela con sangre desfibrinada de carnero, que se enriquece con menadiona y hemina, o agar-sangre de Wilkins y Chalgren.

En algunas circunstancias y para aislamiento de *Bacteroides* se puede añadir una solución de sales biliares que permite seleccionar un buen número de especies, diferenciar las cepas que precipitan la bilis y favorecer el crecimiento de algunos *Bacteroides* del grupo *fragilis*.

En otras ocasiones se pueden utilizar medios con verde brillante, selectivo para *Fusobacterium* (algunas colonias incorporan el verde brillante), y, a veces, medios con polimixina B y otros antibióticos incorporados o en discos.

Los caracteres morfológicos y bioquímicos suelen ser suficientes para establecer el diagnóstico, utilizando una batería donde se debe estudiar la dotación enzimática, fermentación de azúcares, utilización de bilis, etc.

La sensibilidad a determinados antibióticos (fosfomicina, rifampicina, vancomicina, colimicina) puede ser muy orientadora en el diagnóstico.

Es conveniente, además, completar con cromatografía gas-líquido del cultivo, lo que puede ser decisivo en el diagnóstico.

TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR ANAEROBIOS

Debe abarcar diferentes tipos de actuaciones:

1. Procedimientos que eliminen el foco de infección (tratamiento quirúrgico).
2. Aplicación de antimicrobianos (tratamiento etiológico).
3. Otras medidas, incluidas las de sostén (tratamiento médico).

En los casos que aquí no se consideran de procesos producidos por clostridios, a través de sus toxinas, a las medidas anteriores hay que sumar la aplicación de sueros o inmunoglobulinas antitóxicas (tétanos, botulismo y algún caso de infecciones por *C. perfringens*), oxígeno hiperbárico (gangrena gaseosa), etc.

Tratamiento quirúrgico

Es una medida fundamental que en ningún momento debe despreciarse. En muchos casos constituye un tratamiento eficaz por sí solo, aunque en ocasiones se requerirá la aplicación de antimicrobianos. En este sentido se procede a drenar los abscesos, desbridar los tejidos necróticos y cuerpos extraños, descomprimir infecciones de espacio cerrado, ligar las venas infectadas que no respondan a la administración de heparina, etc. Con estas medidas se corrige un hecho de la fisiopatología de la infección por anaerobios: el absceso y el ambiente anaerobio que en él existe.

Tratamiento etiológico

Dado que las infecciones por anaerobios, como se ha señalado, son en un alto porcentaje polimicrobianas, estando involucradas en ellas bacterias de otro tipo respiratorio, es necesario administrar antibióticos activos frente a aerobios y/o facultativos.

En general, se aplica amikacina u otro aminoglicósido, asociado a un antimicrobiano activo frente a las bacterias anaerobias. Otra posibilidad es la utilización de antimicrobianos que incluyan en su espectro bacterias aerobias, facultativas y anaerobias, como ocurre con cefamicinas, acilureidopenicilinas, imipenem o aminotiazoloxima, y cefalosporinas.

Sobre la base de su actividad *in vitro* frente a bacterias anaerobias, podemos utilizar becilpenicilina, carboxi y acilureidopenicilinas, cefamicinas, cefalosporinas, cloranfenicol, clindamicina, 5-nitroimidazoles e imipenem.

Penicilina G

En general es el fármaco de elección. Tan sólo en casos de hipersensibilidad a este fármaco, en la colitis pseudo-

membranosa, cuando están involucradas bacterias resistentes o en infecciones graves, habrá que recurrir a otros antimicrobianos o aplicar este fármaco en asociación. Presentan resistencias *Bacteroides* del grupo *fragilis*, *B. bivius*, *B. disiens* y algunos *Fusobacterium*.

Por ello, en principio, no debe utilizarse en infecciones abdominales u obstetroginecológicas. Se dosificará a razón de 10 a 30 millones UU/día por vía intravenosa. Esta dosis se repartirá en cuatro o seis administraciones, cada 4 ó 6 horas respectivamente. Con excepción de las carboxi y ureidopenicilinas, otros derivados penicilánicos no tienen ventajas sobre la penicilina G. La excepción la constituyen la asociación de amoxicilina y ácido clavulánico y la de ampicilina con sulbactam, que gozan de una excelente actividad frente a *Bacteroides* del grupo *fragilis*.

Carboxi y acilureidopenicilinas

La carbenicilina, ticarcilina, mezlocilina y piperacilina poseen buena actividad frente a las bacterias anaerobias y pueden utilizarse en infecciones provocadas por ellas. Se tiende a utilizar mezlocilina o piperacilina por su mayor espectro y actividad. Este hecho las faculta para ser utilizadas como agentes terapéuticos únicos, aunque en situaciones graves requieran quizás asociarse a aminoglicósidos. El porcentaje de resistencia a mezlocilina y piperacilina de *Bacteroides* del grupo *fragilis* y otros bacteroides es inferior al 10 %. Se dosifican a razón de 200-300 mg/kg, repartidos en 3, 4 ó 6 administraciones. La asociación de ticarcilina-ácido clavulánico potencia la acción de aquélla frente a los *Bacteroides* del grupo *fragilis*.

Cefamicinas

En nuestro país sólo están disponibles cefoxitina y cefmetazol. Aportan la ventaja de que en su espectro incluyen varias especies de enterobacterias, por lo que pueden utilizarse como agentes únicos. Cefoxitina tiene una mayor actividad frente a *Bacteroides* del grupo *fragilis* que cefmetazol.

En nuestro medio, la resistencia a cefoxitina por parte de *Bacteroides* del grupo *fragilis* es superior al 10 %. También existen cepas resistentes, pertenecientes a otras especies de *Bacteroides* y a *Clostridium*, particularmente, *C. difficile*. La dosis habitual de cefoxitina es de 2 g por vía intravenosa cada 6 horas, pero se puede llegar a 12 g/día, y la de cefmetazol, de 1-2 g cada 12 horas.

El moxalactam está químicamente muy relacionado a las cefamicinas y se puede utilizar en infecciones musculares. Existe resistencia por parte de *Bacteroides* del grupo *fragilis* y otros *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* y *Clostridium*. Por estas razones y por algún fenómeno secundario, no leve, en la actualidad se utiliza poco.

Cefalosporinas

Las cefalosporinas de 1.ª y 2.ª generación no son fármacos que se deban considerar para el tratamiento de estas infecciones, debido a su pobre actividad frente a los anaerobios, particularmente frente a *Bacteroides* del grupo *fragilis*. De las cefalosporinas de 3.ª generación, las aminotiazol-oximacefalosporinas poseen mayor actividad. Inhiben aproximadamente el 50 % de las cepas de aquella especie, siendo la más activa la ceftizoxima y la menos la ceftazidima. Se pueden utilizar fundamentalmente en localizaciones extra e intraabdominales. La cefotaxima se administra en dosis de hasta 12 g/día, a intervalos de 6-8 horas, y la ceftizoxima, en dosis de hasta 9 g/día distribuidos cada 8-12 horas. La ceftriaxona debido a su excepcional y larga vida media se puede aplicar en dosis de 2 g/día cada 24 horas.

Cloranfenicol

A pesar de que en su espectro están incluidas prácticamente todas las bacterias anaerobias de interés médico, incluso las resistentes a penicilina, existen escasos datos sobre su empleo clínico en estas infecciones. Su no utilización está relacionada probablemente con la existencia en el arsenal terapéutico de otros antimicrobianos con menor toxicidad, gran poder bactericida y espectro semejante. Además, se han comunicado fracasos *in vivo* en infecciones producidas por anaerobios sensibles *in vitro*. Su eficacia *in vivo* parece ser semejante a la de la clindamicina. Se dosifica a razón de 500 mg-1 g cada 6 horas por vía intravenosa, u oral si fuera posible.

Clindamicina

Su actividad abarca la mayoría de los anaerobios. En nuestro hospital, el porcentaje de resistencias, en 1985 y 1986, ha sido inferior al 10 % de los aislamientos de *Bacteroides* del grupo *fragilis*. No obstante, de forma irregular, pueden aparecer epidemias de cepas resistentes. Se ha descrito, además, resistencia en otras especies de *Bacteroides*, en *Fusobacterium varium* y en clostridios.

Se ha utilizado de forma amplia y con éxito en el tratamiento de infecciones por anaerobios, en diversas localizaciones, salvo en abscesos cerebrales y meningitis, al no atravesar la barrera hematoencefálica. Al no poseer actividad frente a gramnegativos y facultativos, es necesario emplearla asociada a otros antimicrobianos, fundamentalmente aminoglicósidos.

Se ha dicho que el inconveniente mayor radica en sus posibles efectos secundarios a nivel del tubo digestivo, en el que puede provocar la aparición de diarrea y colitis, e incluso colitis pseudomembranosa. No obstante, es necesario señalar que esta última puede ser provocada por otros muchos antimicrobianos, en los que existe una eliminación fecal.

Se suele emplear la vía intravenosa para su administración a dosis de 600 mg cada 6 u 8 horas.

5-Nitroimidazoles

Tienen un espectro que abarca rápidamente todos los anaerobios de interés clínico, habiéndose descrito tan sólo resistencias en cocos grampositivos y bacilos grampositivos no esporulados. Aunque se han publicado casos de cepas resistentes de *Bacteroides* del grupo *fragilis* y otros *Bacteroides*, su hallazgo sigue siendo excepcional. Otras características y ventajas son su alto poder bactericida, su excelente farmacocinética y la baja frecuencia con que inducen efectos secundarios.

Metronidazol, tinidazol y ornidazol tienen una actividad semejante. En nuestro país se utiliza fundamentalmente el metronidazol, al tratarse del único derivado nitroheterocíclico de presentación parenteral de que se dispone. El satranidazol, preparado más reciente, es mucho más activo *in vitro* que los anteriores.

Existe una amplia experiencia clínica con metronidazol que se ha empleado en el tratamiento de múltiples infecciones, que incluyen endocarditis, meningitis y septicemias. En infecciones mixtas es necesario asociarlo a otros antimicrobianos activos frente a aerobios y facultativos.

Se administra por vía intravenosa a razón de 500 mg/8 horas en infusión lenta. Por vía oral también se pueden utilizar ordinazol o tinidazol.

Cefoxitina, mezlocilina, piperacilina, clindamicina o metronidazol son las alternativas más empleadas en la actualidad para el tratamiento de las infecciones por anaerobios.

Imipenem

Pertenece a una nueva familia de β-lactaminas: las carbapeneminas. Su espectro incluye la mayoría de las especies aerobias y anaerobias, frente a las que muestra una gran actividad y entre ellas destacan *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp. y *Bacteroides* del grupo *fragilis*. Se han descrito de esta última especie cepas resistentes, que a la vez lo son a la cefoxitina, pero este fenómeno hoy es poco significativo y en nuestro hospital no se ha detectado cepa alguna con estas características.

Sobre la base de esta actividad y espectro, y por su poder bactericida, puede ser una alternativa válida en el tratamiento de estas infecciones.

Se administra asociado con cilastatina sódica en una proporción 1/1. Esta última sustancia es un inhibidor de las dipeptidasas renales, enzimas que metabolizan e inactivan *in vivo* el imipenem. Se dosifica a razón de 0,3-1 g, cada 6 horas, en infusión intravenosa.

Otros antimicrobianos

Las tetraciclinas y macrólidos son poco útiles en general, debido al elevado número de resistencias que muestran los anaerobios más frecuentes en clínica, pudiendo ser aplicados en circunstancias concretas. De los macrólidos, la josamicina tiene una excelente actividad *in vitro* frente a *Bacteroides* del grupo *fragilis* y su uso está limitado al no existir presentación parenteral. La eritromicina junto con la neomicina se sigue utilizando con éxito en la quimioprofilaxis de la cirugía colorrectal.

Los anaerobios son resistentes a los aminoglicósidos debido a que estos antimicrobianos no pueden penetrar en el interior de estas bacterias, ya que una de las fases de su incorporación celular es oxígeno-dependiente.

De los nuevos β-lactámicos, aztreonam, carumonan o temocilina no presentan actividad. No obstante, podrían aplicarse en asociación con metronidazol y clindamicina, sobre la base de su espectro frente a gramnegativos aerobios y facultativos. De las modernas quinolonas fluoradas, las más activas son ciprofloxacina y ofloxacina, si bien en menor proporción que frente a otras bacterias gramnegativas aerobias y/o facultativas. La vancomicina, sobre la base de su actividad constituye el tratamiento de elección de la colitis pseudomembranosa.

Tratamiento médico

En él se deben incluir medidas de sostén y las tendentes a mejorar las condiciones favorecedoras de la infección. Las más importantes consisten en actuar sobre las metabolopatías y endocrinopatías, tratamientos antineoplásicos, uso de heparina, etc.

ESQUEMA DE EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Las infecciones por anaerobios no esporulados, que fueron relativamente frecuentes hasta el descubrimiento de los antibióticos, perdieron interés por su escasa incidencia; hasta la década de los 60 en que los avances de la medicina condujeron a un alargamiento considerable de la vida en enfermos comprometidos y una mayor hospitalización, con lo que se incrementó extraordinariamente la frecuencia. Al comportarse como oportunistas, las infecciones que producen quedan delimitadas a los hospitales. Por formar parte de la flora normal, por la ausencia de formas de resistencia en estas bacterias no esporuladas y por la labilidad al oxígeno, no parece posible el mecanismo de infección cruzada hospitalaria y se trata siempre de infecciones de tipo endógeno.

Los factores predisponentes ya citados anteriormente condicionan el hecho de que estas infecciones sean más frecuentes en las salas de cirugía y ginecología, en hospitales oncológicos, etc., y representan un considerable alargamiento de estancias con los consiguientes costes hospitalarios, aparte las dificultades del hospitalismo para el enfermo.

Las únicas medidas profilácticas se deben basar en la eliminación y control de los factores predisponentes. En situaciones, como cirugía de colon, aborto provocado, apendicitis con perforación y, en definitiva, todas aquellas en que la aparición de una infección con participación de bacterias anaerobias sea la regla, puede ser conveniente el uso de quimioprofilaxis con antibacterianos que cubran el espectro referido.

BIBLIOGRAFIA

Finegold, S. M.: Anaerobic Bacteria in Human Disease. Academic Press, New York, 1977.

García-Rodríguez, J. A.: Fisiopatología de las infecciones por anaerobios. En J. A. García-Rodríguez (dir.): Bacterias anaerobias. Importancia clínica y microbiológica, 45-66, Universidad de Salamanca, Salamanca, 1980.

García-Rodríguez, J. A., y García Sánchez, J. E.: Infecciones por anaerobios con especial referencia a *B. fragilis*. Medicina (4.ª ed), 70-77, 1986.

Gorbach, S. L.: La flora bacteriana normal. En García Rodríguez, J. A. (dir.): Bacterias anaerobias. Importancia clínica y microbiológica, 21-30. Universidad de Salamanca, Salamanca, 1980.

Hofstad, T., y Digranes, A. (dirs.): Patogenesis and treatment of anaerobic infections. Scand. J. Infect. Dis. suppl., 46, 1985.

Holdeman, L. H.; Cato, E. P., y Moore W. E. C.: Anaerobe Laboratory Virginia Polytechnic Institute and State University, 4.ª ed. Blacksburg, Virginia, 1977.

Krieg, N. R., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of systematic bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Lennette, E. H.; Ballows, A.; Hausler, W. S., Jr, y Shadomy, H. J. (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed. American Society for Microbiology Washington, 1985.

Sneath, P. H. A.; Mair, N. S.; Sharpe, M. E., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2. Williams and Wilkins, Baltimore, 1986.

Willis, A. T.; Jones, P. H., y Reilly, S.: Management of anaerobic infections. Prevention and treatment. Research Studies Press, Chichester, 1981.

Capítulo 36

Enterobacterias: caracteres generales

Agustín Pumarola

CONCEPTO

Las enterobacterias constituyen una amplia familia de bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, relacionados por sus propiedades bioquímicas y genómicas, algunos de cuyos componentes son huéspedes habituales del tubo digestivo del hombre y de los animales.

Se caracterizan por ser poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a la acción de los agentes externos, por cuyo motivo se encuentran muy difundidos. Aunque cierto número se comportan como saprofitos del medio ambiente (agua, suelo, plantas), en su mayoría se encuentran asociadas con el hombre o los animales y constituyen la mayor parte de la flora aerobia gramnegativa que coloniza el tubo digestivo, pero, además, en ocasiones pueden intervenir en procesos patógenos intra o extraintestinales.

En relación con su acción patógena puede distinguirse un grupo reducido de especies que se consideran patógenos estrictos, capaces de producir cuadros patológicos en huéspedes normales, de la gran mayoría que se comportan como patógenos potenciales, capaces de expresar su acción patógena sólo cuando las condiciones ecológicas del huésped se encuentran modificadas, lo que hace que las enterobacterias se encuentren en el origen de gran número de infecciones oportunistas y, junto con *Pseudomonas* y bacilos gramnegativos no fermentadores, constituyan la causa más importante de infecciones hospitalarias.

PROPIEDADES Y CLASIFICACION

La clasificación de las enterobacterias se efectúa sobre la base de sus propiedades bioquímicas y antigénicas.

Propiedades bioquímicas

Las enterobacterias se definen como bacilos gramnegativos aerobios y anaerobios facultativos, de 2-4 µm de longitud por 0,4-0,6 µm de anchura, con extremidades redondeadas (fig. 36-1), que pueden ser móviles con flagelación perítrica o inmóviles, no producen oxidasas, pero reducen los nitratos y descomponen la glucosa por fermentación.

Estos caracteres permiten separarlos de otras familias de bacilos gramnegativos, en especial de la familia *Vibrionaceae (Vibrio, Aeromonas* y *Plesiomonas)*, bacilos curvos con flagelación polar, aerobios y anaerobios facultativos, que son oxidasa-positivos y descomponen la glucosa por fermentación, y de la familia *Pseudomonadaceae (Pseudomonas)*, constituida por bacilos móviles con un flagelo polar, aerobios estrictos, que son oxidasa-positivos y atacan la glucosa por oxidación.

Familia	Metabolismo	Oxidasas
Enterobacteriaceae	Fermentativo	–
Vibrionaceae	Fermentativo	+
Pseudomonadaceae	Oxidativo	+

Las enterobacterias presentan, además, una gran variedad de propiedades bioquímicas o metabólicas, pues son capaces de fermentar diversos azúcares y alcoholes, utilizar diversas vías metabólicas con formación de ácidos y a veces de gas, descomponer diferentes sustratos (ácidos orgánicos, sustancias nitrogenadas) y aun producir gran variedad de

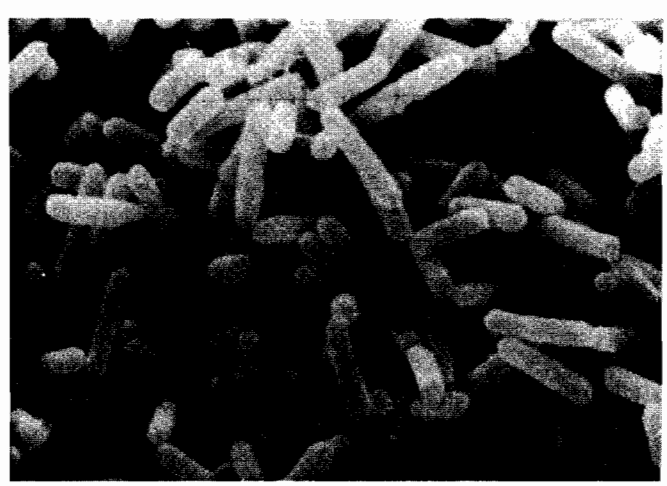


Fig. 36-1. Cultivo de *K. pneumoniae*. Microfotografía electrónica (× 10.000).

fermentos (ureasas, descarboxilasas, desaminasas, dihidrolasas) y productos finales (indol, SH_2), por los que se pueden reconocer y diferenciar. La determinación de estas propiedades mediante pruebas bioquímicas sencillas constituye la base de la clasificación de las enterobacterias en géneros y especies.

Estructura antigénica

Las enterobacterias pueden presentar diversos antígenos (fig. 36-2):

Antígeno somático o antígeno O. La pared celular está constituida por una fina capa de peptidoglicano, recubierta por la membrana externa compuesta por el lipopolisacárido, que a su vez está dividido en tres fracciones.

La fracción interna o lípido A corresponde a la endotoxina y el polisacárido comprende las otras dos fracciones que se identifican con el antígeno O, termoestable: una fracción central compuesta por oligosacáridos y KDO (ácido ketodesoxi-manulosoctónico), que, al ser común a la mayoría de bacilos gramnegativos explica la existencia de reacciones cruzadas, y una fracción externa constituida por cadenas terminales de oligosacáridos, que son variables y responsables de la especificidad, de manera que, atendiendo al antígeno O, las diversas especies de enterobacterias se pueden dividir en grupos O, algunos de los cuales se encuentran asociados con cuadros clínicos.

Antígeno capsular o antígeno K. Algunas especies pueden presentar antígenos superficiales o antígenos K, de naturaleza polisacárida, ya en forma de cápsulas bien definidas (*E. coli, Klebsiella*) o de una fina capa mucosa (antígeno M o mucoide de *Salmonella*, antígeno Vi de *S. typhi*), que recubren el antígeno O y son responsables de la O-inaglutinabilidad. Intervienen en la acción patógena por sus propiedades antifagocitarias.

Antígeno flagelar o antígeno H. Las cepas móviles presentan antígenos flagelados proteicos y termolábiles, de importancia en la clasificación en serotipos.

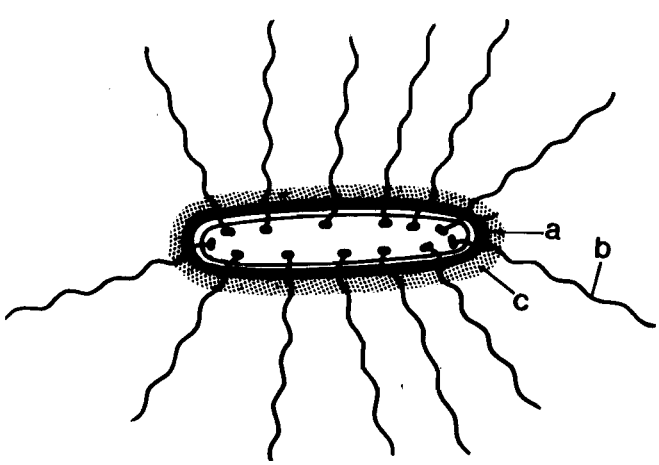


Fig. 36-2. Antígenos de las enterobacterias: *a)* antígeno O; *b)* antígeno H, y *c)* antígeno K.

Antígeno de las fimbrias o antígeno F. Las cepas fimbriadas presentan antígenos proteicos relacionados con la capacidad de adherencia en las células epiteliales. Serológicamente son heterogéneos y permiten dividir las cepas en serotipos F.

Variaciones genotípicas

En las enterobacterias es relativamente frecuente la aparición de variaciones genotípicas por mutación o mecanismos de transferencia genética, que pueden afectar tanto la constitución antigénica como los caracteres bioquímicos.

Se pueden presentar variaciones antigénicas por mutación que pueden afectar cualquiera de los antígenos, como la pérdida de la fracción terminal del polisacárido, que confiere la especificidad al antígeno O (variación lisa → rugosa), pérdida del antígeno H (variación OH → O) o variación de fase (fase 1 → fase 2), pérdida del antígeno Vi (variación V → W) y aun cambios de serotipo por la aparición de nuevos antígenos, como consecuencia de fenómenos de conversión lisogénica o de transferencia genética, cromosómica o plasmídica.

También se pueden producir variaciones en las propiedades bioquímicas, como en la capacidad de fermentar un determinado azúcar, sintetizar un exofermento y producir exotoxinas, y en la sensibilidad o resistencia a los antibióticos.

Estos fenómenos de variación son importantes, pues permiten explicar, por un lado, las dificultades que existen en la clasificación de las enterobacterias, ya que los géneros son difíciles de delimitar por la existencia de cepas que presentan caracteres atípicos e intermedios, y, por otro, sus amplias posibilidades patógenas con la aparición frecuente de cepas resistentes y multirresistentes a los antibióticos, que se producen en la mayoría de los casos por transferencia plasmídica (factor R), de manera que en el curso del tratamiento por antibióticos se seleccionan cepas resistentes de otras bacterias, que pueden colonizar la mucosa intestinal y transferir los factores de resistencia a enterobacterias oportunistas, creando el problema de las infecciones hospitalarias por gramnegativos.

CLASIFICACION

La clasificación de las enterobacterias se efectúa fundamentalmente por sus propiedades bioquímicas. Mediante el empleo de gran número de pruebas bioquímicas y con la ayuda de los métodos de hibridación y homología del ADN se han podido caracterizar con mayor precisión algunos géneros y especies y aun describir otros nuevos, que han conferido a la clasificación una gran complejidad. En la última edición del Manual de Bergey (1984), tomando como base estos estudios bioquímicos y genómicos, se presenta una clasificación actualizada de la familia *Enterobacteriaceae* en más de 20 géneros y cerca de 100 especies (tablas 36-1 y 36-2), que en su mayoría tienen interés médico.

Tradicionalmente y según su capacidad de fermentar la lactosa, las enterobacterias se han dividido en tres grandes grupos (fermentadores rápidos, fermentadores lentos y no fermentadores) que se han considerado de interés para la clasificación (tabla 36-3) y especialmente por su relación

Tabla 36-1. Familia Enterobacteriaceae. Clasificación en géneros y especies (Manual de Bergey, 1984)

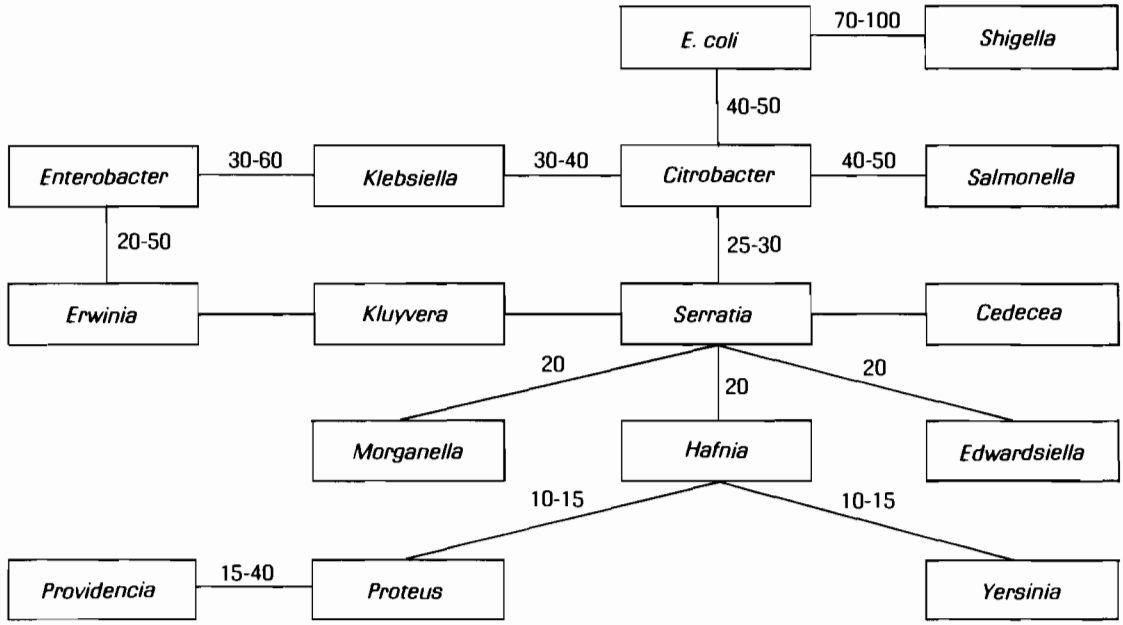
Géneros	Especies	Géneros	Especies
Escherichia	*E. coli*	*Proteus*	*P. vulgaris*
	*E. blattae**		*P. mirabilis*
			*P. myxofaciens**
Shigella	*S. dysenteriae*		
	S. flexneri	*Providencia*	*P. alcalifaciens*
	S. boydii		*P. stuartii*
	S. sonnei		*P. rettgeri*
Edwardsiella	*E. tarda*	*Morganella*	*M. morganii*
	*E. ictaluri**		
	*E. toshinae**	*Yersinia*	*Y. pseudotuberculosis*
			Y. pestis
Citrobacter	*C. freundii*		*Y. enterocolitica*
	C. diversus		*Y. ruckeri**
	C. amalonaticus		*Y. intermedia*
			Y. frederiksenii
Salmonella	*S. choleraesuis*		*Y. kristensenii*
	S. typhi		
	S. paratyphi A	*Erwinia*	*E. amylovora*
	S. schottmuelleri		*E. salicis*
	(S. paratyphi B)		*E. tracheiphila*
	S. hirschfeldii		*E. nigrifluens*
	(S. paratyphi C)		*E. quercina*
	S. typhimurium		*E. rubrifaciens*
	S. enteritidis		*E. herbicola*
	S. gallinarum		*E. stewartii*
	S. salamae		*E. uredovora*
	S. arizonae		*E. carotovora*
	S. houtenae		*E. chrysanthemi*
			E. cypripedii
Klebsiella	*K. pneumoniae*		*E. rhapontici*
	subsp. *pneumoniae*		*E. carnegieana**
	subsp. *ozaenae*		*E. mallotivora**
	subsp. *rhinoscleromatis*		
	K. oxitoca	*Obesumbacterium**	*O. proteus**
	*K. planticola**	*Kluyvera**	*K. ascorbata**
	*K. terrigena**		*K. cryocrescens**
Enterobacter	*E. cloacae*	*Cedecea**	*C. lapagei**
	E. aerogenes		*C. davisae**
	E. agglomerans		
	*E. gergoviae**	*Tatumella**	*T. ptyseos**
	*E. amnigenus**	*Xenorhabdus**	*X. neumatophilus**
	*E. sakazakii**		*X. luminescens**
	*E. intermedium**		
		*Rahnella**	*R. aquatilis**
Hafnia	*H. alvei*	*Ewingella**	*E. americana**
		*Buttiauxella**	*B. agrestis*
Serratia	*S. marcescens*	*Moellerella**	*M. wisconsensis*
	*S. liquefaciens**	*Budvicia**	*B. aquatica*
	*S. rubidaea**	*Koserella**	*K. trabulsi*
	*S. plymuthica**	*Leminorella**	*L. richardii*
	*S. proteamaculans**		
	*S. odorifera**		
	*S. fonticola**		
	*S. ficaria**		

*Géneros y especies nuevos.

con la acción patógena, pues la mayoría de enterobacterias patógenas se incluyen en el grupo de los no fermentadores (*Salmonella, Shigella*).

Aunque en la actualidad esta clasificación ha perdido gran parte de su valor, pues se ha observado que las enterobacterias patógenas también pueden encontrarse entre los fermentadores rápidos (*E. coli* productores de diarrea) o lentos (*Yersinia*) y, por otra parte, no se acepta que la fermentación de la lactosa tenga un valor taxonómico absoluto por la existencia de numerosas excepciones; sin embargo, presenta un indudable interés práctico si se tiene en cuenta que para el aislamiento de las enterobacterias se utilizan di-

Tabla 36-2. Relaciones genómicas. Los números expresan la proporción aproximada de homología en el ADN de los distintos géneros (Manual de Bergey, 1984)



versos medios de cultivo con la lactosa como azúcar diferencial, lo que constituye la etapa inicial para su identificación.

Para la clasificación de las enterobacterias en géneros y especies en el Manual de Bergey (1984) se utilizan un conjunto de más de 40 reacciones bioquímicas que constituyen el cometido de laboratorios especializados. A pesar de ello, en la mayoría de laboratorios clínicos se utiliza para el diagnóstico de rutina el estudio de un reducido número de caracteres que permiten llegar a una clasificación presuntiva de los géneros y principales especies, incluidas las atipias más importantes (tabla 36-4).

Pero, además, las especies se pueden clasificar según sus propiedades antigénicas. Atendiendo al antígeno O se pueden dividir en grupos O y por sus antígenos K o H, en serotipos o serovars O:H u O:K:H. Por otra parte, según la capacidad de las especies y serotipos de fermentar determinados azúcares y su sensibilidad a un grupo de fagos seleccionados o de bacteriocinas, pueden subdividirse en biotipos o biovars, fagotipos o fagovars y bacteriocinotipos o bacteriocinovars, de gran interés epidemiológico. Asimismo, el empleo de enzimas de restricción para demostrar la identidad del material genético extracromosómico complementa las subdivisiones intraespecíficas al confirmar la homogeneidad de las cepas aisladas en los brotes epidémicos.

Tabla 36-3. Clasificación de la familia Enterobacteriaceae según la capacidad de fermentar la lactosa

Fermentadores rápidos	Fermentadores lentos	No fermentadores
Escherichia	*Citrobacter*	*Salmonella*
Enterobacter	*Serratia*	*Shigella*
Klebsiella	*Hafnia*	*Edwardsiella*
Kluyvera	*Yersinia*	*Proteus*
Rahnella	*S. arizonae*	*Morganella*
Buttiauxella	*S. sonnei*	*Providencia*
Moellerella	*Cedecea*	*Obesumbacterium*
	Budvicia	*Tatumella*
	Koserella	*Xenorhabdus*
		Leminorella

ACCION PATOGENA

La acción patógena de las enterobacterias es debida a factores diversos:

Antígenos estructurales de superficie. El lipopolisacárido y proteínas de algunos serogrupos (antígenos O), los antígenos capsulares (antígenos K) y las fimbrias (antígenos F) actúan por sus propiedades antifagocitarias o, de serorresistencia o su capacidad de adherencia. Las enterobacterias pueden presentar fimbrias relacionadas con la adherencia a los receptores de las células epiteliales de la mucosa. Hay que señalar las frimbrias MS o de tipo 1 de muchas enterobacterias, las fimbrias MR de los *E. coli* enterotoxígenos de los animales (K88, K99, 987) y del hombre (CFAI, CFAII, E8775), las fimbrias P de los *E. coli* uropatógenos, etc. También algunas enterobacterias pueden desarrollar glicocálix que les permiten adherirse a materiales inertes (catéteres, prótesis) y expresar su acción patógena.

Bacteriocinas. Las cepas de algunas especies de enterobacterias (*E. coli, K. pneunomiae, S. marcescens)* pueden producir bacteriocinas (colicinas, klebocinas, marcesinas), proteínas que presentan propiedades tóxicas frente a cepas de la misma especie o de especies relacionadas. Permiten la clasificación en tipos (bacteriocinotipos) e intervienen facilitando la colonización de las mucosas, al inhibir el desarrollo de especies relacionadas.

Endotoxina. La endotoxina ligada al lípido A es responsable de la producción de fiebre y alteraciones vasculares

Tabla 36-4. Clasificación bioquímica presuntiva de los géneros y principales especies de la familia Enterobacteriaceae

	Gas en G	Lactosa	ONPG	SH_2	LDC	ODC	Movilidad	Manitol	Ureasa	TDA o FADA	Indol
Escherichia coli	+	+	+	−	(+)	d	(+)	+	−	−	+
E. coli inactivo	−	(−)	d	−	d	(−)	−	+	−	−	(+)
S. dysenteriae	−	−	d	−	−	−	−	−	−	−	d
S. boydii, S. flexneri	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	d
S. sonnei	−	−	(+)	−	−	+	−	+	−	−	−
Salmonella I	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−
Salmonella II	+	−	d	+	+	+	+	+	−	−	−
Salmonella III (S. arizonae)	+	d	+	+	+	+	+	+	−	−	−
Salmonella IV	+	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−
S. typhi	−	−	−	+	+	−	+	+	−	−	−
C. freundii	+	d	+	(+)	−	(−)	+	+	d	−	−
C. diversus y *C. amalonaticus*	+	d	+	−	−	+	+	+	(+)	−	+
Edwardsiella tarda	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+
P. mirabilis	+	−	−	+	−	+	+	−	+	+	−
P. vulgaris	(+)	−	−	+	−	−	+	−	+	+	+
M. morganii	(+)	−	−	−	−	+	+	−	+	+	+
P. rettgeri	d	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
P. stuartii	−	−	−	−	−	−	(+)	(−)	d	+	+
P. alcalifaciens	(+)	−	−	−	−	−	+	−	−	+	+
K. p. pneumoniae	+	+	+	−	+	−	−	+	+	−	−
K. oxytoca	+	+	+	−	+	−	−	+	+	−	+
K. p. ozaenae	d	d	(+)	−	d	−	−	+	−	−	−
K. p. rhinoscleromatis	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
E. aerogenes	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−	−
E. cloacae	+	+	+	−	−	+	+	+	d	−	−
E. agglomerans	(−)	d	+	−	−	−	(+)	+	(−)	(−)	(−)
Serratia spp.	d	−	+	−	+	+	+	+	(−)	−	−
H. alvei	+	−	+	−	+	+	+ (22 °C) d (37 °C)	+	−	−	−
Y. enterocolitica	−	−	+	−	−	+	+ 22 °C − 37 °C	+	(+)	−	d
Y. pseudotuberculosis	−	−	d	−	−	−	+ 22 °C − 37 °C	+	+	−	−
Cedecea lapagei	+	d	+	−	−	−	(+)	+	−	−	−
Kluyvera ascorbata	+	+	+	−	d	+	+	+	−	−	(+)
Obesumbacterium proteus	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−
Rahnella aquatilis	(+)	+	+	−	−	−	−	+	−	+	−
Tatumella ptyseos	−	−	−	−	−	−	−	−	−	(+)	−
Xenorhabdus nematophilus	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	d
Ewingella americana	−	d	+	−	−	−	d	+	−	−	−
Buttiauxella agrestis	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−	−
Moerella wisconsensis	−	+	+	−	−	−	−	d	−	−	−
Budvicia aquatica	−	−	+	+	−	−	+	−	+	−	−
Koserella trabulsi	+	−	+	−	+	+	+	+	−	−	−
Leminorella grimontii	(+)	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
L. richardii	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−

ya por su acción directa o por el mecanismo de las reacciones de hipersensibilidad no específica.

Enterotoxinas. Algunas cepas producen enterotoxinas que actúan ya por acción tóxica directa sobre las células del epitelio intestinal o del endotelio vascular (enterotoxinas citotóxicas) o produciendo un estímulo funcional, generalmente a través del fermento adenilciclasa (enterotoxinas citotónicas). Las enterotoxinas mejor conocidas son las de *E. coli*, pero también se han señalado en otras enterobacterias (*Salmonella, Shigella*, etc.).

Atendiendo a su acción patógena, las enterobacterias se pueden dividir en dos grandes grupos (tabla 36-5):

Enterobacterias patógenas (*E. coli* productores de diarrea, *Salmonella, Shigella* y *Yersinia*). Son bacterias que por lo general no forman parte de la flora intestinal, pero que pueden dar lugar a procesos diversos en huéspedes normales, en su mayoría en el tubo digestivo (enteritis). Se caracterizan por su sensibilidad a gran número de antibióticos, que no siempre es necesario administrar para la curación del proceso.

Enterobacterias oportunistas (*E. coli, Klebsiella-Enterobacter, Serratia-Hafnia, Citrobacter, Edwardsiella, Proteus, Morganella, Providencia*). Son microorganismos que forman parte de la flora comensal del tubo digestivo o se encuentran como saprofitos en el medio externo, que normalmente no se comportan como patógenos, pero, cuando se presentan factores predisponentes, pueden dar lugar a cuadros clínicos diversos por lo general fuera del aparato digestivo (infecciones urinarias, supuraciones de diversa localización

Tabla 36-5. Enterobacterias patógenas y oportunistas

Patógenas	Oportunistas	
E. coli productores de diarrea	*Escherichia*	*Cedecea*
Salmonella	*Klebsiella-Enterobacter*	*Tatumella*
Shigella	*Serratia-Hafnia*	*Kluyvera*
Yersinia	*Citrobacter*	*Rahnella*
	Edwardsiella	*Ewingella*
	Proteus, Morganella y *Providencia*	

Edwarsiella, Hafnia, Erwinia y los nuevos géneros raramente se aíslan en clínica (cap. 39).

y sepsis). En su mayoría son cepas resistentes o multirresistentes a los antibióticos, que generalmente es necesario administrar para la curación del proceso. Los nuevos géneros *Cedecea, Tatumella, Kluyvera, Rahnella* y *Ewingella* de origen ambiental se consideran como probables oportunistas. También se han aislado ocasionalmente del hombre otros géneros de origen telúrico o animal sin que se hayan podido relacionar con procesos patógenos (*Buttiauxella, Moellerella, Obesumbacterium, Xenorhabdus, Budvicia, Koserella* y *Leminorella*), por lo que su interés en microbiología clínica es muy limitado.

METODOS GENERALES DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACION

Recogida y transporte de las muestras

Las muestras deben ser recientes y representativas, y obtenerse en condiciones asépticas y, a ser posible, antes de la administración de antimicrobianos.

Las heces (enteritis) deben obtenerse durante los primeros días de la enfermedad, cuando los patógenos se encuentran en mayor proporción. Una muestra directa es más representativa y permite, además, seleccionar las zonas patológicas (moco o pus), pero también se pueden utilizar hisopos rectales. La orina debe obtenerse del chorro medio en recipiente estéril y la sangre, durante los períodos febriles (hemocultivo). El pus y exudados son más representativos si se recogen en cantidad por aspiración con jeringa, pues, además, permiten la conservación de los anaerobios que se encuentran a menudo en el producto.

Si las muestras no se transforman y procesan rápidamente, deben utilizarse medios de transporte (medio de Teague y Clurman para las heces, medio de Amies y Corpas para la orina) y conservarse en la nevera, para que se mantengan la viabilidad de los gérmenes y sus propiedades relativas.

Aislamiento

Medios de cultivo

El aislamiento de enterobacterias de los productos patológicos se facilita por el empleo de medios de enriquecimiento y de aislamiento, que se distinguen por su estado físico y su capacidad diferencial e inhibidora de la flora no patógena.

Medios de enriquecimiento. Son medios líquidos que permiten el desarrollo de las enterobacterias patógenas de las heces, especialmente *Salmonella*, y contienen sustancias inhibidoras de la flora grampositiva y gramnegativa comensal. Los más utilizados son el caldo de tetrationato con bilis y verde brillante de Müller y Kauffman para el aislamiento de *Salmonella* (a excepción de *S. typhi*) y el caldo de selenito F de Leifson para *Salmonella* y algunas especies de *Shigella*.

Medios de aislamiento en placa. Son medios sólidos que se distinguen por su capacidad diferencial y selectiva de la flora patógena. Se pueden dividir en:

1. Medios ordinarios, cuando no tienen carácter diferencial ni selectivo, como el agar común y agar-sangre.
2. Medios diferenciales, cuando permiten distinguir las colonias de las bacterias fermentadoras de la lactosa. Como las colonias de enterobacterias presentan caracteres microscópicos semejantes, puede establecerse una primera diferenciación sembrando el producto patológico en un medio sólido que contenga lactosa y un indicador de pH que permita diferenciar por el color las colonias fermentadoras rápidas de la lactosa (agar-lactosa con azul de bromotimol o rojo fenol).
3. Medios diferenciales y selectivos, cuando contienen, además, sustancias inhibidoras de la flora grampositiva y a veces de la coliforme. Según su grado de selectividad pueden ser:

a) Poco selectivos, cuando permiten el crecimiento de todas las enterobacterias como el medio EMB (eosina-azul de metileno) y MacConkey (sales bialiares y cristal violeta).

b) Moderadamente selectivos, cuando, además, inhiben en parte la flora coliforme, como el medio SS (*Salmonella-Shigella*), desoxicolato-citrato o desoxicolato-xilosa-lisina.

c) Muy selectivos, como el medio de Wilson-Blair (agar-sulfito de bismuto) y el agar verde brillante, que se emplean para el aislamiento de *Salmonella*.

Método

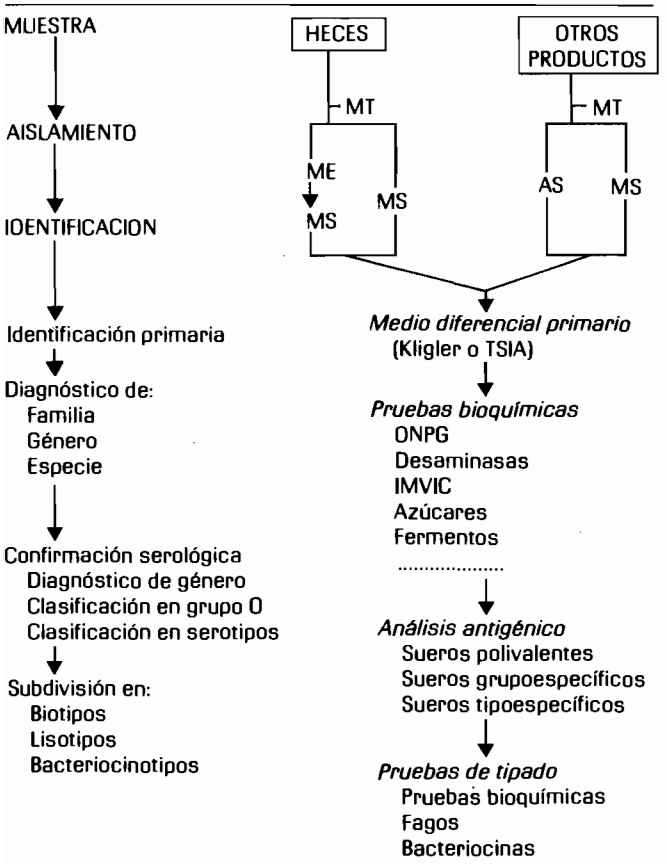
El aislamiento a partir de las heces se efectúa (tabla 36-6) sembrando la muestra a la vez en medios líquidos de enriquecimiento y en medios diferenciales en placa, poco selectivos y moderadamente selectivos. A las 18 horas a partir de los medios de enriquecimiento se siembran nuevos medios selectivos. A partir de otros productos (orina, pus, exudados) se siembra directamente la muestra en agar-sangre y medios diferenciales poco selectivos.

El desarrollo en los medios diferenciales permite distinguir por el color (fig. 36-3) las colonias de enterobacterias fermentadoras rápidas de la lactosa de las no fermentadoras y fermentadoras lentas, donde se encuentran la mayoría de especies patógenas (*Salmonella, Shigella*).

Identificación

La identificación presuntiva de los géneros y especies más importantes se efectúa sobre la base del conocimiento de una serie de propiedades bioquímicas, cuya determina-

Tabla 36-6



ME: Medio de enriquecimiento.
MS: Medio selectivo.
MT: Medio de transporte.
AS: Agar-sangre.
ONPG:ß-galactosidasa.

ción se facilita por el uso de un grupo reducido de medios combinados, que permiten obtener varias respuestas (medios de Kligler o TSIA, lisina-hierro, ornitina-movilidad, urea-indol), y aun de sistemas comerciales de identificación (API 20E, Enterotube, Minitek, Enteroset 20, Auto Microbics).

En general, la marcha de identificación presuntiva se efectúa de la siguiente manera:

Siembra en un medio diferencial primario

Las colonias seleccionadas en las placas de aislamiento suelen sembrarse en el medio de Kligler con dos azúares (Kligler Iron Agar o KIA) o en el medio TSIA (Triple Sugar Iron Agar) con tres azúcares, que permiten obtener las bacterias en cultivo puro y a su vez determinar algunos caracteres bioquímicos.

El medio de Kliger (KIA) es un agar inclinado en tubo con mucho fondo, que contiene dos azúcares en diferente proporción (glucosa al 0,1 % y lactosa al 1 %) con sulfato de hierro y rojo fenol como indicador de pH (fig. 36-4). Este medio, que presenta una débil tonalidad rosada o salmón, se siembra a la vez en superficie y en profundidad (por picadura), y después de incubación permite obtener cuatro respuestas: fermentación de la glucosa (viraje al amarillo del fondo), fermentación de la lactosa (viraje al amarillo de la superficie), producción de SH_2 (precipitado negro de sulfato ferroso) y formación de gas en la fermentación de la glucosa (burbujas o despegamiento del agar).

Si la bacteria fermenta la glucosa, como este azúcar se encuentra en pequeña cantidad (0,1 %), los ácidos formados en superficie (en presencia de oxígeno) son rápidamente neutralizados por las aminas volátiles producidas por la descarboxilación oxidativa de las proteínas no modificando el pH de la superficie ni su color, pero, en profundidad, los ácidos formados en la fermentación anaerobia de la glucosa

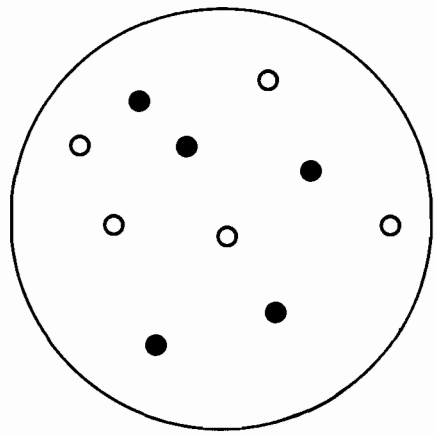


Fig. 36-3. Medio diferencial y selectivo. Siembra en placa donde se observa por el cambio de color las colonias fermentadoras de la lactosa.

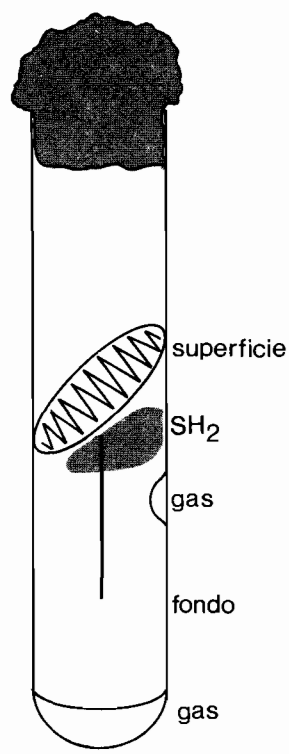


Fig. 36-4. Medio de Kligler, que muestra el crecimiento en superficie (estría) y en profundidad (picadura), así como la producción de gas y de SH_2.

Tabla 36-7. Enterobacteriaceae. Reacciones en el medio de Kligler

Lactosa	+	*E. coli*
Glucosa	+	*Klebsiella-Enterobacter*
Gas	+	*Citrobacter diversus*
SH_2	−	*Citrobacter amalonaticus*
		*Cedecea**
		Rahnella
		Kluyvera
		Buttiauxella
Lactosa	+	
Glucosa	+	
Gas	+	*Citrobacter freundii*
SH_2	+	
		Shigella
		Serratia
Lactosa	−	*Proteus*
Glucosa	+	*Providencia*
Gas	−	*Yersinia*
SH_2	−	*Alkalescens-dispar*
		Tatumella
		Xerorrhabdus
		Obesumbacterium
Lactosa	−	*Morganella*
Glucosa	+	*Providencia*
Gas	+	*Hafnia*
SH_2	−	*Enterobacter*
		Koserella
Lactosa	−	*Proteus*
Glucosa	+	*Salmonella**
Gas	+	*Edwardsiella*
SH_2	+	*Leminorella**
Lactosa	+	
Glucosa	+	*Ewingella**
Gas	−	*Moellerella*
SH_2	−	
Lactosa	−	
Glucosa	+	
Gas	−	*Budvicia*
SH_2	+	

* *S. typhi* no produce gas. *S. paratyphi A* no produce SH_2. *Cedecea* = lactosa (d). *Ewingella* = lactosa (d/+). *Leminorella* = gas (d).

hacen variar el pH del fondo, cuyo color vira al amarillo. Si se produce, además, la fermentación rápida de la lactosa, que se encuentra en mayor cantidad (1 %), los ácidos modifican el pH de la superficie del medio, que vira a amarillo.

Las respuestas en el medio de Kligler de los diferentes géneros de enterobacterias se expresan en la tabla 37-7.

Reacciones bioquímicas de identificación

A partir del cultivo puro pueden practicarse directamente diversas reacciones o sembrarse nuevos medios diferenciales, que permitan determinar los caracteres bioquímicos necesarios para llegar a la identificación de la cepa aislada. Estas reacciones son numerosas y su selección varía según las bacterias que se trate de identificar.

Con las *bacterias fermentadoras rápidas de la lactosa* puede establecerse una ulterior diferenciación practicando las pruebas bioquímicas de género (tabla 36-4) o el grupo de reacciones IMVIC, que determinan entre otras la vía metabólica seguida en la fermentación de la glucosa. Las enterobacterias se caracterizan por fermentar la glucosa, pero pueden diferenciarse por la vía metabólica utilizada. La fermentación de la glucosa se efectúa en dos fases: en la primera, la glucosa se transforma en ácido pirúvico, siguiendo la vía de Embden-Meyerhoff, y en la segunda se produce la fermentación del ácido pirúvico, con oxidaciones incompletas y formación de productos finales de reacción ácida, que responden a dos esquemas metabólicos.

Fermentación ácida mixta. Se caracteriza por la formación de diversos ácidos (láctico, acético, succínico, y fórmico, etanol, CO_2 y H_2) que comunican una acidez elevada al medio de cultivo (pH < 4,5), que persiste durante mucho tiempo. Se detecta por la reacción del rojo de metilo (RM+), colorante que vira por debajo de un pH de 4,5.

Fermentación butilenglicólica. Se caracterizan por un predominio de productos neutros sobre los ácidos, que producen una acidez menor (pH > 4,5) que rápidamente viran a la neutralidad (reacción del rojo metilo negativa), y por la formación de un nuevo producto, la acetoína o acetil-metil-carbinol, que se puede reconocer por la reacción de Voges-Proskauer (VP+).

Estas reacciones, junto con la determinación de la producción de indol a partir del triptófano y el crecimiento en medios con citrato como única fuente de carbono, constituyen el grupo de reacciones que se conoce con el anagrama IMVIC (indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato), de interés en la clasificación de los diversos géneros, muy en especial de los fermentadores de la lactosa (bacilos coliformes).

Atendiendo al distinto comportamiento de los bacilos coliformes frente a estas pruebas, se puede distinguir el género *Escherichia* (+ + − −) de los géneros *Klebsiella* y *Enterobacter* (− − + +), con algunas excepciones que pueden precisarse con otras pruebas (movilidad, SH_2, ornitín-descarboxilasa y ADNasa).

Con las *bacterias no fermentadoras de la lactosa* se debe descartar, en primer lugar, la presencia de fermentadores lentos (*Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Yersinia*), mediante la determinación de la producción de β-galactosidasa por la reacción del ortonitrofenil-galactopiranósido (ONPG) y de los *Proteus, Morganella* y *Providencia* por la producción de desaminasas, y proseguir luego la identificación mediante otras reacciones bioquímicas que permitan llegar al diagnóstico bioquímico de género.

Producción de β-galactosidasas (ONPG). Las enterobacterias se diferencian según su capacidad para fermentar la lactosa en fermentadoras rápidas, fermentadoras lentas y no fermentadoras. La lactosa es un disacárido compuesto por moléculas de glucosa y galactosa, unidas por un enlace β-galactósido. Para fermentar la lactosa, las bacterias necesitan dos enzimas: la β-galactósido-permeasa, que facilita la difusión de la lactosa a través de la pared celular de la bacteria, y la β-galactosidasa, que descompone por hidrólisis el enlace β-galactósido de la lactosa y libera sus componentes, en particular la glucosa, que así puede ser fermentada.

Las enterobacterias pueden ser fermentadoras rápidas, cuando presentan las dos enzimas, o no fermentadoras, cuando carecen de ellas. Las fermentadoras lentas poseen β-galactosidasa, pero carecen de permeasa o ésta presenta escasa actividad; en los medios sólidos con lactosa se com-

portan en general como no fermentadores y sólo pueden detectarse demostrando la presencia de β-galactosidasa por la reacción del ONPG, compuesto capaz de atravesar la pared celular, que la β-galactosidasa descompone en galactosa y ortonitrofenil, y que al liberarse en medio alcalino toma un color amarillo pálido.

Producción de desaminasas. La demostración de desaminasas de la fenilalanina o del triptófano es un carácter diferencial importante, que permite separar los géneros *Proteus, Morganella* y *Providencia*, que las producen de las demás enterobacterias, en especial de las no fermentadoras de la lactosa.

Una marcha de identificación bioquímica presuntiva se establece en la tabla 36-6.

Análisis antigénico

El diagnóstico bioquímico puede confirmarse y proseguirse más adelante mediante análisis de los antígenos O, K y H, que permiten determinar los serotipos y éstos a su vez pueden subdividirse en biotipos, fagotipos o bacteriocinotipos.

BIBLIOGRAFIA

Brenner, D. J.; Farmer, J. J., III; Hickman, F. W.; Asbury, M. A., y Steigerwaltz, A. G.: Taxonomic and nomenclature changes in Enterobacteriaceae. C. D. C., Atlanta, 1977.

Cowan, S. T.: Cowan and Steel's Manual for identification of Medical Bacteria, 2.ª ed., Cambridge University Press, New York, 1974.

Edwards, P. R., y Ewing, W. H.: Identification of Enterobacteriaceae, 3.ª ed. Burgers Publ. Co., Minneapolis, 1972.

Kauffmann, F.: The Microbiology of Enterobacteriaceae. Munksgaard, Kóbenhavn, 1966.

Kauffmann, F.: Classification of Bacteria. Munksgaard, Kóbenhavn, 1975.

Krieg, R. N. y Holt, J. G.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins. Baltimore, 1984.

Martin, W. J., y Washington, J. A., II; Enterobacteriaceae. En Lennette, E. H. (dir.): Manual of Clinical Microbiology, 3.ª ed. American Society for Microbiology, Washington, 195, 1980.

Prats, G.: Estudio de las técnicas de aislamiento e identificación de *Enterobacteriaceae* patógenas. Tesis doctoral, Barcelona, 1978.

Skerman, V. B. D., McGowan, V., y Sneath, P. H. A.: Approved list of Bacterial Names. Int. J. Syst. Bact., 30, 225, 1980.

Capítulo 37

Salmonella

Agustín Pumarola

CONCEPTO

El género *Salmonella* está compuesto por enterobacterias móviles con pocas excepciones que no fermentan la lactosa, no producen desaminasas y se definen por sus propiedades bioquímicas. Es un grupo complejo de microorganismos de clasificación aún no bien establecida, en el que pueden diferenciarse alrededor de 2.200 serotipos o serovars (esquema de Kauffmann-White). Son parásitos intestinales de los animales de sangre caliente o fría y pocas veces del hombre, que se eliminan por las heces y se diseminan en el medio ambiente, donde pueden sobrevivir durante un tiempo variable según las condiciones de temperatura, pH y humedad.

En su mayoría son patógenos para el hombre, los animales o ambos. En el hombre pueden producir dos modelos principales de infección: *a)* infecciones generalizadas del SRE con fiebre continua, cuyo cuadro más característico son las fiebres entéricas, tipo fiebre tifoidea, producidas por *S. typhi* y un reducido grupo de serotipos, y *b)* infecciones localizadas en el tubo digestivo o enteritis febriles, tipo gastroenteritis o enterocolitis por toxiinfección alimentaria, que pueden ser producidas por la mayoría de serotipos.

Desde el punto de vista epidemiológico, las primeras tienen una fuente de infección humana y su frecuencia disminuye progresivamente en la medida en que están resueltos los problemas de abastecimiento de agua potable y la eliminación de excretas, mientras que, en las segundas, el reservorio es animal y están relacionadas con el problema mundial de la producción, distribución y preparación de los alimentos, y su frecuencia se encuentra en aumento.

PROPIEDADES Y CLASIFICACION

Las *Salmonella* se clasifican sobre la base de sus propiedades bioquímicas y antigénicas.

Propiedades del género

El género *Salmonella* presenta una serie de propiedades metabólicas que permiten diferenciarlo de las restantes enterobacterias (v. tabla 36-3). En general está constituido por enterobacterias móviles, que en el medio de Kligler no fermentan la lactosa, fermentan la glucosa con gas, producen SH_2 y, por otra parte, no forman desaminasas ni ureasas. Existen algunas excepciones. *S. gallinarum-pullorum* es inmóvil, *S. typhi* no produce gas, *S paratyphi* A no produce SH_2 y *S. arizonae* fermenta la lactosa rápida o lentamente. Por otra parte, la mayoría de cepas del género *Salmonella* (98 %) se lisan por el fago 01 de Felix y Callow.

Estructura antigénica

Poseen antígenos somáticos (O) y flagelares (H), pero, además, un reducido grupo de serotipos pueden presentar el antígeno capsular Vi.

Antígeno O. Es un lipopolisacárido termostable, localizado en la pared celular. La fracción interna se encuentra asociada con la endotoxina (lípido A) y la fracción externa o terminal es responsable de la especificidad serológica. Por tratamiento de suspensiones vivas por el calor se destruye el antígeno H y Vi, y se obtienen suspensiones O puras, que en presencia del anticuerpo específico producen una aglutinación lenta y granular, que no se deshace por agitación (aglutinación somática). Por lo general, el antígeno O no es único, sino que está constituido por diversos factores antigénicos, algunos de los cuales pueden ser comunes con otros serotipos y permiten dividir las *Salmonella* en grupos O.

Antígeno H. Es un antígeno termolábil, de naturaleza proteica, contenido en los flagelos. Se inactiva por el calor, alcohol y ácidos; por el contrario, el tratamiento con formol fija los flagelos y se obtienen suspensiones de bacterias flageladas, que, aunque también contienen el antígeno O, por producirse la aglutinación con el antígeno H más rápidamente y a título más elevado, se comportan como suspensiones flageladas puras. La aglutinación flagelar es rápida, en forma de grumos grandes, blandos y algodonosos, que rápidamente se deshacen por agitación.

Atendiendo al antígeno flagelar, las salmonelas pueden ser monofásicas, cuando contienen siempre el mismo antígeno flagelar, generalmente específico (*S. typhi, S. paratyphi* A), o difásicas, cuando el antígeno flagelar puede presentarse alternativamente en fase específica (fase 1), característica del serotipo, o en fase menos específica (fase 2), que puede ser común con otras *Salmonella*. Cuando se aísla una *Sal-*

Tabla 37-1. Género Salmonella. Caracteres diferenciales de los subgéneros

	Subgéneros				
	I	II	III	IV	V
β-Galactosidasa	−	−, x	+	−	+
Producción de ácido					
Lactosa	−	−	+, x	−	−
Dulcitol	+	+	−	−	−
Mucato	+	+	d	−	+
Galactorunato	−	+	d	+	+
Utilización del					
Malonato	−	+	+	−	−
d-Tartrato	+	−, x	−, x	−, x	−
Hidrólisis de gelatina	−	+	+	+	−
Crecimiento en CNK	−	−	−	+	+
Hábitat					
Animales de sangre caliente	+	−	−	−	−
Animales de sangre fría y medio ambiente	−	+	+	+	+

monella en fase 2, generalmente es necesario proceder a una inversión de fase (método de Sven Gard) para reconocer el antígeno flagelar específico y llegar a la identificación del serotipo.

Antígeno Vi. Es un antígeno capsular termolábil, que presentan algunas especies recién aisladas *(S. typhi, S. Paratyphi* C, *S. dublin)*, responsable de la O-inaglutinabilidad. Por la adición de un suero Vi se produce una aglutinación lenta y granular más fina que la O (aglutinación Vi). Por tratamiento con el calor se destruye el antígeno Vi y la suspensión se hace aglutinable por un suero O. El antígeno Vi, junto con el O, es el responsable de la virulencia, y los anticuerpos Vi presentan poder protector.

Clasificación

Existen dos clasificaciones que dividen el género *Salmonella* por sus propiedades bioquímicas en subgéneros (Kauffmann) o en especies (Edwards y Ewing), y se ha propuesto una nueva clasificación en subespecies basada en la consideración conjunta de propiedades bioquímicas y genómicas (Le Minor). En todos los casos, los subgéneros, especies o subespecies se pueden dividir, a su vez, en serotipos o serovars, según el esquema de Kauffmann-White.

Clasificación de Kauffmann

Por caracteres bioquímicos, Kauffmann divide el género *Salmonella* en 4 subgéneros. Esta clasificación ha sido adoptada en el Manuel de Bergey (1984) añadiendo un nuevo subgénero (tabla 37-1). En el subgénero I se encuentran las *Salmonella* de los animales de sangre caliente que incluyen la mayoría de serotipos patógenos y en los subgéneros II, III *(S. arizonae)*, IV y V, las aisladas de los animales de sangre fría y del medio ambiente.

Clasificación de Edwards y Ewing

Por caracteres bioquímicos diferencia 3 especies, *S. typhi, S. cholerae-suis* y *S. enteritidis* (tabla 37-2), que se subdividen por métodos serológicos (antígenos O y H) y bioquímicos en serotipos y bioserotipos. Las dos primeras especies contienen un solo serotipo, mientras que *S. enteritidis* comprende los serotipos restantes, que deben designarse como *S. enteritidis* serotipo *typhimurium*, serotipo *paratyphi B*, etc. A diferencia de la clasificación anterior, considera *Arizonae* como un género aparte, con la especie tipo *A. hinshawii*.

Clasificación de Le Minor

Sobre la base del estudio de gran número de caracteres fenotípicos y genotípicos (hibridación ADN/ADN) y aplicando los datos de la taxonomía numérica al análisis de los resultados, Le Minor y cols. consideran que el género *Salmonella* está constituido por una sola especie, que puede dividirse en 6 subespecies, que se corresponden en líneas generales con los subgéneros de Kauffmann (tabla 37-3).

Clasificación en serotipos (esquema serológico de Kauffmann-White)

La clasificación serológica en serotipos o serovars (esquema de Kauffmann-White) se efectúa sobre la base de la determinación de los antígenos O y H (tabla 37-4). Atendiendo al antígeno O, las salmonelas se han dividido en 67 grupos O, que se designan primero por letras de la A a la Z y luego por números del 51 al 67 y dentro de cada grupo O se dividen en serotipos por sus antígenos flagelares en fase 1 ó 2;

Tabla 37-2. Género Salmonella. Identificación bioquímica de las especies (Edwards y Ewing)

	S. typhi	*S. cholerae-suis*	*S. enteritidis*
SH_2	+, debil	+	+
Citrato de Simmons	−	(+)	+
Ornitín-descarboxilasas	−	+	+
Gas de la glucosa	−	+	+
Dulcitol	−	−	+
Trehalosa	+	−	+
Arabinosa	−	−	+
Ramnosa	−	+	+

Tabla 37-3. Género Salmonella. Correspondencia entre las clasificaciones de Kauffmann y de Le Minor

Clasificación de Kauffmann modificada (Bergey, 1984)	Clasificación de Le Minor, Veron y Popof (1982)
Género *Salmonella*	Género *Salmonella*
Subgéneros	–
–	Especie: S. *choleraesuis*
–	Subespecies
I. S. *choleraesuis*	I. S. *choleraesuis*
II. S. *salamae*	II. S. *salamae*
III. S. *arizonae*	III. S. *arizonae* (serovars monofásicos)
	IV. S. *arizonae* (serovars difásicos)
IV. S. *houtenae*	V. S. *houtenae*
V. S. *bongor*	VI. S. *bongor*

Tabla 37-4. Esquema de Kauffmann-White (muy abreviado)

		Fórmula antigénica		
			Antígeno H	
Grupo	Tipo o especie	Antígeno O	Fase 1	Fase 2
A	S. *paratyphi* A	1, 2, 12	a	(1, 5)
B	S. *abortus bovis*	1, 4, 12, 27	b	e, n, x
	S. *paratyphi* B	1, 4, (5), 12	b	1, 2
	S. *stanley*	1, 4, (5), 12, 27	d	1, 2
	S. *derby*	1, 4, (5), 12	fg	(1, 2)
	S. *typhimurium*	1, 4, (5), 12	i	1, 2
C_1	S. *paratyphi* C	6, 7, (Vi)	(c)	1, 5
	S. *choleraesuis*	6, 7	c	1, 5
	S. *montevideo*	6, 7	g, m, (p), s	(1, 2, 7)
	S. *oranienburg*	6, 7	m, t	–
	S. *thompson*	6, 7	k	1, 5
	S. *bareilly*	6, 7	y	1, 5
C_2	S. *muenchen*	6, 8	d	1, 2
	S. *manhattan*	6, 8	d	1, 5
	S. *newport*	6, 8	e, h	1, 2
C_3	S. *kentucky*	8, 20	i	z6
	S. *virginia*	8	d	1, 2
C_4	S. *eimsbuettel*	6, 7, 14	d	1w
D_1	S. *sendai*	1, 9, 12	a	1, 5
	S. *typhi*	9, 12, (Vi)	d	–
	S. *enteritidis*	1, 9, 12	g, m	(1, 7)
	S. *gallinarum-pullorum*	1, 9, 12	–	–
D_2	S. *strasbourg*	9, 46	d	1, 7
E_1	S. *anatum*	3, 10	e, h	1, 6
	S. *london*	3, 10	l, v	1, 6
E_2	S. *newington*	3, 15	e, h	1, 6
E_3	S. *illinois*	3, 15, 34	z10	1, 5
E_4	S. *senftenberg*	1, 3, 19	g, (s), t	–
Etc.	Etc.	Etc.	Etc.	Etc.

los primeros se designan por letras minúsculas y los segundos, por números. En la actualidad se conocen cerca de 2.200 serotipos.

Clasificación en biotipos y fagotipos

Sometiendo los serotipos a diversas pruebas bioquímicas, que incluyen la fermentación de azúcares, alcoholes, glicerina y ácidos orgánicos, pueden confirmarse los resultados del análisis antigénico y aun en algunos casos, subdividirse los serotipos en tipos bioquímicos, biotipos o biovars.

Por otra parte, algunos serotipos (*S. typhi, S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B, *S. enteritidis, S. typhimurium*) pueden subdividirse atendiendo al distinto comportamiento de sus cepas frente a un grupo de bacteriófagos seleccionados y constituyen los tipos bacteriofágicos, fagotipos o fagovars.

Esta técnica es de gran importancia en epidemiología, pues permite: *a)* conocer si un conjunto de casos que aparecen en una región constituyen un solo foco o varios, según que las especies aisladas pertenezcan o no al mismo fagotipo; *b)* seguir la cadena de infección en sentido retrógrado hasta el origen o fuente de infección y, en consecuencia, detectar los portadores crónicos, que son la causa del mantenimiento de la endemia y punto de partida de brotes epidémicos, y *c)* determinar el mapa fagotípico de una región o nación y, así, poder saber si un brote es autóctono o importado. El tipo E_1 es el más frecuente en la mayoría de países.

ACCION PATOGENA

Determinantes de la patogenicidad

Se encuentran relacionados con antígenos estructurales y toxinas.

Antígenos. Las *Salmonella* pueden presentar fimbrias de tipo 1, probablemente asociadas con su capacidad de adherencia en las células epiteliales del intestino delgado, y antígenos superficiales O y Vi, relacionados con la virulencia que les permite sobrevivir en el interior de los fagocitos responsables de su capacidad de penetración e invasión.

Toxinas. Contienen una *endotoxina* común a las enterobacterias, y en las *Salmonella* aisladas de gastroenteritis se han descrito *enterotoxinas* que podrían ser la causa de la diarrea líquida que se presenta. En este sentido, *Salmonella* presentaría propiedades enteroinvasivas y quizás enterotóxicas.

Ecología y tipos de infección

Las *Salmonella* son parásitos que producen infecciones en el hombre, en los animales o en ambos. Aunque existen serotipos que afectan principalmente a los animales (*S. gallinarum-pullorum, S. abortus equi, S. typhi-suis*) y otros que son específicos del hombre (*S. typhi* y *S. paratyphi* A), la mayoría pueden afectar a ambos, pues la mayoría de serotipos son huéspedes naturales de los animales y pueden infectar al hombre.

En los *animales* pueden producir infecciones más o menos específicas en determinadas especies, como *S. typhimurium* y *S. enteritidis*, serotipos ubicuos que producen epidemias en colonias de ratas, *S. abortus equi* y *ovis*, que son la causa del aborto infeccioso de las yeguas y ovejas, *S. typhisuis*, que causa el tifus de los lechones, *S. choleraesuis*, que produce una infección grave de los cerdos, *S. gallinarum*, que provoca la tifoidea de las aves de corral, *S. pullorum*, que ocasiona la diarrea blanca de los pollos, *S. anatum* y *S. newington*, que originan la enfermedad de la quilla de los patos, etc. Pero, además, la mayoría de *Salmonella* pueden producir infecciones inespecíficas en gran número de animales, que se manifiestan en general por afecciones gas-

trointestinales, procesos bacteriémicos o septicémicos y trastornos del parto.

En el hombre pueden producir dos cuadros clínicos fundamentales: *a)* gastroenteritis o enterocolitis, tipo toxiinfección alimentaria, y *b)* infecciones entéricas, tipo fiebre tifoidea. Además, pueden presentarse formas bacteriémicas, formas metastásicas de localización visceral, de aparición más rara y formas persistentes asintomáticas (portadores crónicos).

1. GASTROENTERITIS O ENTEROCOLITIS, TIPO TOXIINFECCION ALIMENTARIA

La infección se produce generalmente por consumo de alimentos contaminados (toxiinfección alimentaria) y puede estar producida por todas las *Salmonella*, con la excepción de *S. typhi* y *S. paratyphi* A. En su mayoría se clasifican en el subgénero I de Kauffmann, en la especie *S. enteriditis* de Edwards y Ewing o en la subespecie *choleraesuis* de Le Minor. En el esquema serológico de Kauffmann-White, los serotipos más frecuentemente aislados del hombre se incluyen en los grupos B (*S. typhimurium, S. wien, S. agona, S. derby, S. bredeney, S. heidelberg, S. kimuenza, S. brandenburg, S. paratyphi* B) y D1 (*S. enteritidis, S. dublin, S. eastbourne, S. panama*). La dosis infectiva es elevada y oscila entre 10^6 y 10^9, según la virulencia de la cepa.

Patogenia

En el organismo existen una serie de mecanismos naturales, que tienden a eliminar y destruir las bacterias que penetran por vía digestiva, como la acidez gástrica, el peristaltismo intestinal y la flora normal, que los microorganismos patógenos pueden soslayar *a)* cuando ingresan con los alimentos, lo que representa cierta protección para las bacterias; *b)* cuando disminuye o se anula la acidez gástrica por cualquier causa (hipoclorhidria, aclorhidria, gastrectomía), o *c)* cuando por la administración de antibióticos se inhibe la función de barrera de la flora normal, que se considera debida a la secreción de ácidos grasos de cadena corta que tendrían una acción inhibidora y tóxica, de manera que en estos casos aumentaría la susceptibilidad del huésped y se precisaría un menor número de microorganismos para iniciar la infección. También aumenta la susceptibilidad en los casos de malnutrición y de procesos tumorales o cuando se administra una terapéutica inmunodepresora.

Al llegar las bacterias al intestino colonizan principalmente el íleon y el ciego, se adhieren a las células de la mucosa, penetran por un mecanismo semejante a la fagocitosis e invaden el epitelio y la lámina propia, donde se multiplican y producen una reacción inflamatoria (capacidad enteroinvasiva), que va seguida de la activación de la adenilciclasa, con pérdida de agua y electrólitos y producción de diarrea. Aunque se ha observado en los cultivos la producción de enterotoxinas, se considera que, en estos casos, el mecanismo patogénico de la diarrea sería distinto y la activación de la adenilciclasa se produciría probablemente por un aumento de la síntesis de prostaglandinas como consecuencia del proceso inflamatorio, ya que la indometacina, que es un inhibidor de las prostaglandinas, bloquea la activación de la adenilciclasa y la producción de diarrea.

Cuadro clínico

La enfermedad se caracteriza en que, después de un período de incubación de 12-36 horas, se presentan náuseas, vómitos y dolores abdominales con fiebre y diarrea de intensidad variable, cuadro que dura de 1 a 7 días y por lo general cura espontáneamente, aunque en el 10-20 % de casos la eliminación puede continuar durante cierto tiempo. En los casos leves y moderados, la administración de antibióticos no parece que acorte la duración de la enfermedad, y se ha observado que incluso puede prolongar el período de eliminación.

Se diferencia de la intoxicación alimentaria por enterotoxina estafilocócica, porque el período de incubación es mayor, los enfermos presentan fiebre, predomina la diarrea sobre los vómitos, el cuadro es más prolongado y la administración de antibióticos puede modificar el cuadro.

La frecuencia de toxiinfecciones alimentarias ha aumentado en la mayoría de países, especialmente en los desarrollados que consumen dietas hiperproteicas. En Estados Unidos se calcula que cada año se producen 2 millones de casos, de los cuales 500.000 requieren hospitalización.

Brotes hospitalarios

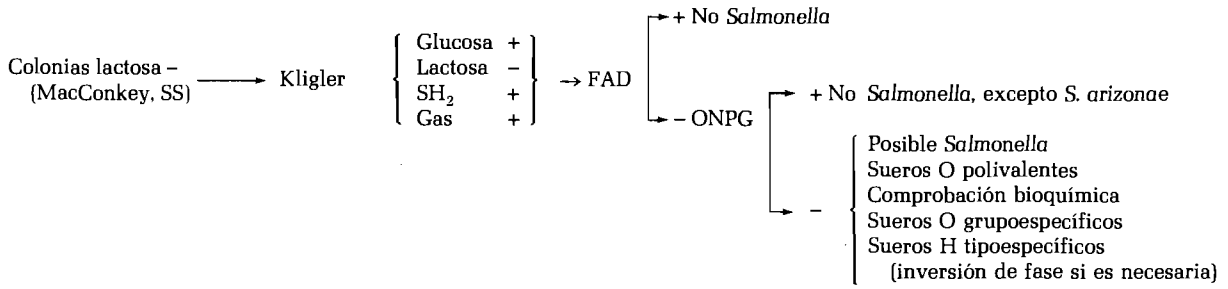
Aunque los brotes de toxiinfección alimentaria se producen en la población general por consumo de alimentos contaminados, como consecuencia por lo general de celebraciones y banquetes, también se observan brotes de gastroenteritis en los enfermos hospitalizados, sobre todo en las maternidades, salas de pediatría e incluso en las de enfermos crónicos y de edad avanzada, brotes que son difíciles de controlar y pueden producir una mortalidad elevada. A diferencia de los anteriores son producidos generalmente por contacto (infecciones cruzadas) a partir de enfermos o portadores y transmitidos por el personal asistente.

Diagnóstico bacteriológico

Se efectúa por aislamiento e identificación del microorganismo a partir de las heces del enfermo, mediante la técnica del coprocultivo, y menos veces del alimento. Para ello, se siembra una pequeña cantidad de heces en medios de enriquecimiento (tetrationato o selenito) y selectivos (medios de MacConkey, SS, desoxicolato-citrato), que permiten seleccionar rápidamente las colonias no fermentadoras de la lactosa (*Salmonella, Shigella, Proteus, Pseudomonas*). Si en el medio de Kligler dan una respuesta compatible (glucosa +, lactosa –, gas +, SH_2 +) y no producen β-galactosidasa (ONPG –) ni desaminasas (FAD –), se pueden descartar los fermentadores lentos de la lactosa, así como los *Proteus* y *Providencia*. A continuación se pueden ensayar sueros O polivalentes y comprobar posteriormente el diagnóstico con la batería de pruebas bioquímicas de género (tabla 37-5).

Con los microorganismos que presentan las propiedades bioquímicas del género se puede proceder al análisis antigénico, mediante pruebas de aglutinación sobre porta con: *a)* sueros O polivalentes, que confirman el diagnóstico de *Salmonella; b)* sueros O grupoespecíficos, que, al identificar el antígeno O principal, permiten clasificar la *Salmonella* aislada en un subgrupo O, y *c)* sueros H tipoespecíficos,

Tabla 37-5. Salmonella. Marcha de identificación presuntiva.



S. paratyphi A no produce SH_2.
S. typhi no produce gas.
FAD: fenilalanindesaminasa.
ONPG: β-galactosidasa.

que, al determinar el antígeno H, identifican el serotipo, que se puede confirmar por las pruebas bioquímicas de tipo. Si presentan los antígenos H en fase 2 de grupo, debe practicarse una inversión de fase para llegar a la identificación del serotipo.

No se practican pruebas de aglutinación con el suero de los enfermos, porque los anticuerpos aparecen tardíamente y el título es escaso, y sobre todo por el gran número de serotipos que pueden producir dichos cuadros. Sin embargo, una vez aislada una salmonela de las heces de un enfermo, se puede confirmar que se trata del agente causal, cuando aglutina con su suero durante la enfermedad o convalecencia.

Tratamiento

Aunque las *Salmonella* gastroenteríticas se encuentran dentro de las enterobacterias más sensibles a los antibióticos, se ha observado un aumento progresivo de resistencia de tipo plasmídico como consecuencia del empleo excesivo de antibióticos en los animales, ya por incorporación a los piensos para incrementar el desarrollo de los animales normales o por el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Se han descrito brotes producidos por cepas multirresistentes, generalmente en los hospitales, que han difundido en diversas áreas geográficas. En la actualidad se considera que en los casos no complicados no es aconsejable la administración de antibióticos, pues, además de no acelerar la curación, puede prolongar el período de eliminación durante la convalecencia.

Epidemiología

El reservorio está constituido por los animales enfermos o portadores, especialmente los mamíferos y las aves, y dentro del primer grupo los animales de abasto (óvidos, bóvidos, suinos) y domésticos (perros, gatos, tortugas). Los alimentos más importantes son la carne y productos cárnicos de aves (pollos, pavos, patos), cerdos y bóvidos; les siguen la leche, huevos y crustáceos, y menos veces los pescados y vegetales.

La contaminación de la carne puede ocurrir durante la vida del animal o después de su sacrificio. *La contaminación in vivo* se produce como consecuencia de una infección clínica o asintomática. El ciclo de infección se inicia en las granjas por la introducción de animales enfermos o portadores, o por el consumo creciente de piensos compuestos contaminados, que contienen harinas de origen animal (carne, pescado, huesos) y, menos veces, vegetal. La infección difunde *a)* por la tendencia a agrupar los animales en grandes unidades de cría o engorde intensivo, que facilitan la intercontaminación, o por contacto directo o indirecto a través del medio ambiente y, posteriormente, *b)* por las condiciones de transporte y estabulación (hacinamiento, temperatura elevada), que representan un considerable stress que incrementa el número de eliminadores.

La *contaminación en el matadero* se produce durante el sacrificio del animal, ya a partir del contenido intestinal o del medio ambiente, mediante utensilios y aparatos, aguas residuales y múridos, que facilitan la contaminación de otras canales.

Los productos más contaminados son los *alimentos manipulados*, como las carnes preparadas (carnes picadas, salchichas), los productos de pastelería y helados, en los que pueden intervenir diversos ingredientes contaminados en origen (huevos o leche en polvo, coco rallado, cacao) o como consecuencia de su mezcla y manipulación.

A pesar de la extraordinaria difusión de las *Salmonella* en los alimentos, el número de casos es mucho menor del que cabría esperar, porque la dosis infectiva debe ser muy elevada y varía de 10^6-10^9, según la virulencia de la cepa. Por ello, en la mayoría de casos es necesario un período de multiplicación en el alimento antes de su consumo para alcanzar la dosis infectiva, lo que ocurre cuando se mantiene el alimento durante cierto tiempo a temperatura ambiente o en condiciones de escasa refrigeración. El cocinado o la preparación de los alimentos constituyen un factor limitante de la contaminación, que puede ser sobrepasado por los hábitos alimentarios sobre todo cuando existe la costumbre del consumo de carne cruda o poco cocida.

Pero, además, el alimento puede contaminarse una vez preparado, a partir de los alimentos crudos, lo cual ocurre cuando ambos alimentos se manipulan con las mismas manos, utensilios, aparatos o superficies, pues las enterobacterias se desarrollan más rápidamente en los alimentos preparados. Es el gran problema de la *contaminación cruzada de los alimentos*, que se produce en las cocinas particulares, restaurantes, charcuterías, supermercados y sobre todo en las grandes empresas especializadas en el suministro colectivo de alimentos y comidas preparadas.

Profilaxis

Se basa en la adopción de diversas medidas:

a) Disminución de la infección del ganado, mediante el mejoramiento de las condiciones higiénicas en corrales, establos y mataderos, y control de los piensos.

b) Inspección veterinaria y separación de los animales enfermos, sacrificados de urgencia o que presenten lesiones sospechosas en la canal, que deben someterse a examen bacteriológico.

c) Evitar la contaminación de los alimentos, mediante lucha contra los roedores y moscas, alejamiento de los animales domésticos y control de los manipuladores.

d) Medidas que destruyan el microorganismo en los alimentos, como la pasteurización de la leche, cocción de la carne o prevención de su multiplicación por refrigeración de los alimentos hasta su consumo (carnes, pasteles, huevos).

e) Aislamiento en los hospitales de los enfermos con diarrea, especialmente en las maternidades, salas de pediatría y áreas críticas.

2. INFECCIONES BACTERIEMICAS, TIPO FIEBRE TIFOIDEA

La *fiebre tifoidea* puede estar producida por *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B o *S. paratyphi* C (fiebres tifoparatíficas) y menos veces por otros serotipos *(S. sendai)*. Estos microorganismos se caracterizan en general por su mayor virulencia, especialmente *S. typhi*, pues la presencia del antígeno O y sobre todo del antígeno Vi representa cierta protección frente a la acidez gástrica y sustancias bactericidas, que condiciona una dosis infectiva menor (10^5).

Patogenia

Los microorganismos ingresan por vía digestiva con el agua o los alimentos, llegan al intestino delgado donde se fijan en los receptores de las microvellosidades de las células del íleon y penetran por un mecanismo semejante a la fagocitosis (endocitosis), con degeneración de las células de la mucosa. Posteriormente llegan a la submucosa, donde son rápidamente fagocitados, se desarrollan en el citoplasma de las células mononucleares, que los transportan por los vasos linfáticos a los ganglios mesentéricos y por el conducto torácico a la sangre, y se produce una primera fase de bacteriemia que corresponde al período de incubación. Las bacterias son captadas por las células del sistema fagocitario mononuclear del hígado, bazo y medula ósea, donde se multiplican activamente dando lugar a una segunda fase de bacteriemia, que coincide con el comienzo de la enfermedad. En esta fase difunden por diversos órganos y tejidos, y por la vesícula biliar llegan de nuevo al intestino, donde producen una reacción inflamatoria en las placas de Peyer, con necrosis y formación de úlceras, que pueden conducir a la producción de hemorragias y perforación intestinal.

En la fase de bacteriemia, los microorganismos liberan endotoxina y, por otra parte, al difundir en el organismo, pueden localizarse y dar lugar en algunos casos a infecciones supuradas en otros órganos o tejidos, que se manifiestan mucho tiempo después de la enfermedad. Durante la convalecencia y después de la curación una pequeña proporción de enfermos pueden continuar siendo eliminadores fecales durante varias semanas (portadores convalecientes) o aun persistir como tales durante 1 ó varios años (portadores crónicos). Se supone que la fiebre y los síntomas tóxicos son producidos por la endotoxina, ya por acción directa o por el mecanismo de las reacciones de hipersensibilidad, que incrementan la reacción inflamatoria y la liberación de pirógenos.

Existen factores predisponentes, pues se ha observado que las enfermedades del sistema hematopoyético (leucemias, linfomas, hemoglobinopatías) favorecen la aparición de la enfermedad *(S. typhi)* y, en el caso de bacteriemias por otros serotipos, facilitan su difusión y localización en otros tejidos u órganos (hueso, meninges, aparato respiratorio). Asimismo, la presencia de alteraciones o cálculos de la vesícula biliar facilita el establecimiento del estado de portador crónico.

Cuadro clínico

Se pueden distinguir:

Fiebres tifoparatíficas

Se caracterizan en que, después de un período de incubación de 10-15 días, aparece fiebre que aumenta progresivamente hasta alcanzar 39-40 °C, momento en que se mantiene, «fiebre continua o en meseta», asociada con anorexia, cefalalgia frontal, estupor, roséola (erupción maculopapulosa) y esplenomegalia; la enfermedad puede durar varias semanas, si no se somete el enfermo a un tratamiento adecuado, e incluso es posible que se presenten complicaciones graves, cardiovasculares (colapso) o digestivas (hemorragia, perforación intestinal). En la sangre se observa leucopenia generalmente con linfomononucleosis relativa y aumento del número de bandas. Como consecuencia de la enfermedad se produce cierto grado de inmunidad, de tipo humoral y sobre todo celular, que en general protege de las reinfecciones.

Formas bacteriémicas sin localización

En ocasiones, la infección se manifiesta sólo por fiebre sin signos de localización, que puede persistir durante varias semanas. Es la fiebre de origen desconocido, que se presenta en niños y personas de edad avanzada, y puede ser producida por diversos serotipos que se aíslan por hemocultivo. Sin embargo, en una pequeña proporción de casos pueden presentarse localizaciones secundarias, en forma de abscesos, en diversos órganos o tejidos, que se manifiestan al cabo de cierto tiempo. Se han descrito sepsis por *S. choleraesuis*, que revisten especial gravedad.

Formas localizadas

Además de las anteriores, se han observado formas localizadas sin la existencia de un cuadro bacteriémico aparen-

te, en especial *meningitis purulentas* en el recién nacido, que pueden producir complicaciones neurológicas y una elevada mortalidad, *osteomielitis, abscesos hepáticos* o *esplénicos, infecciones pleuropulmonares con empiema* y *pielonefritis*. En muchos de estos casos se demuestran factores del huésped (enfermedad de base, tratamiento con inmunodepresores), que facilitan la difusión y localización.

Diagnóstico bacteriológico

Se efectúa por aislamiento e identificación de la bacteria causal en los productos del enfermo (sangre, heces, orina, órganos y tejidos obtenidos por punción) o por la demostración de anticuerpos en el suero mediante reacciones de aglutinación (fig. 37-1).

Métodos de aislamiento

La bacteria causal se aísla fundamentalmente de la sangre durante la fase de bacteriemia, pero también de las heces, orina y, menos veces, de otras localizaciones.

Hemocultivo. Es el método de elección. La siembra de 5-10 ml de sangre del enfermo obtenidos durante el período febril en un frasco de hemocultivo permite conseguir un 90-100 % de resultados positivos durante la primera semana de la enfermedad, proporción que disminuye en las semanas siguientes. Se puede aislar también a partir del coágulo de una muestra de sangre remitida para serología, sembrándola en un medio de enriquecimiento (bilis-tetrationato, selenito F); no exige precauciones especiales y se consigue un elevado porcentaje de resultados positivos, al eliminar el poder bactericida del suero.

Coprocultivo. Las bacterias se eliminan por las heces a partir de la segunda semana y persisten durante toda la enfermedad. Se puede utilizar para el diagnóstico de un enfermo con un cuadro clínico compatible, pero sobre todo para determinar el período de eliminación en un enfermo ya diagnosticado y curado clínicamente (curación bacteriológica) y en el diagnóstico de los portadores.

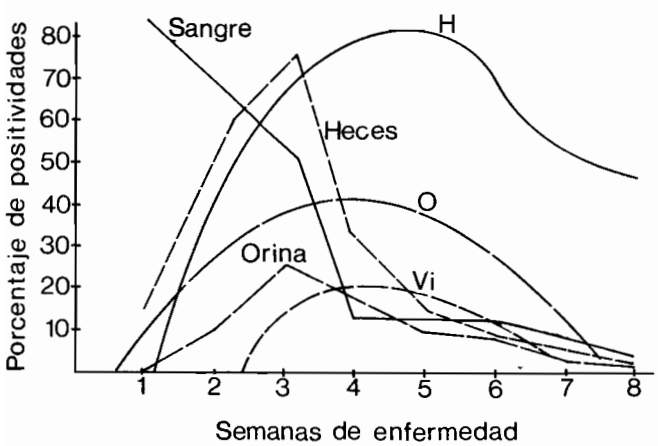


Fig. 37-1. Fiebre tifoidea. Frecuencia de aislamientos en sangre, orina y heces, y evolución del título de anticuerpos O y H, en el curso de la enfermedad.

Se siembran las heces directamente o previo enriquecimiento en medios moderadamente selectivos (medio SS) o muy selectivos (medio de Wilson Blair).

Otros métodos. También se pueden aislar de la *orina* a partir de la tercera semana y de otras localizaciones, sembrando placas de agar-sangre y medios poco selectivos (MacConkey, EMB).

La *identificación* se efectúa por pruebas bioquímicas y análisis antigénico. Las colonias lactosa-negativas se siembran en medio de Kligler y las cepas que no producen gas (lactosa –, glucosa +, gas – y SH_2 +) se ensayan con sueros polivalentes y monovalentes para la identificación de los antígenos O, H y Vi, que para *S. typhi* son O (9, 12), H (d, –) y Vi. En caso negativo se debe repetir la aglutinación con la suspensión calentada para destruir el antígeno Vi. Si persiste la negatividad y se comprueba por reacciones bioquímicas que es una *Salmonella*, se debe proceder directamente a la identificación del serotipo.

Pruebas serológicas

Se basan en demostrar anticuerpos a título significativo en el suero del enfermo a partir de la primera semana de la enfermedad, por medio de reacciones de aglutinación cuantitativas frente a los antígenos O y H de los principales serotipos, especialmente *S. typhi, S. paratyphi* A y *S. paratyphi* B (serodiagnóstico de Widal y Felix).

Para la interpretación correcta de los resultados hay que tener en cuenta: *a)* que en la población normal se pueden encontrar anticuerpos residuales como consecuencia de infecciones anteriores o de vacunación, que obligan a considerar como significativos sólo los títulos superiores a los valores medios de la población, y *b)* que, en el curso de la infección, la cinética de los anticuerpos frente a los diversos antígenos es diversa. Los anticuerpos O aparecen precozmente (6-8 días), alcanzan títulos moderados y desaparecen rápidamente a los 3-6 meses, y la vacunación, por lo general, no aumenta su título. Los anticuerpos H, por el contrario, aparecen más tarde (8-12 días), alcanzan títulos más elevados y persisten durante más tiempo; pueden demostrarse títulos bajos durante más de 1 año y la vacunación incrementa su título. Los anticuerpos Vi aparecen más tardíamente (tercera semana) y alcanzan títulos bajos (1/10-1/20).

Interpretación de los resultados:

a) Cuando el título O es igual o superior a 1/80, cualquiera que sea el título H, es significativo de infección actual.

b) Cuando el título O es inferior a 1/80, puede ocurrir:

Que no se detecten anticuerpos H, lo cual puede ser debido a que la enfermedad se encuentra en período inicial o a una infección por otro serotipo del mismo grupo O. En el primer caso, la práctica de una nueva seroaglutinación unos días más tarde que demuestre la presencia de anticuerpos H y un aumento del título O aclarará el diagnóstico. En el segundo caso se puede intentar demostrar anticuerpos H frente a otros serotipos del mismo grupo O, en especial frente a *S. enteritidis* (mismo grupo O que *S. typhi*) o *S. typhimurium* (mismo grupo O que *S. paratyphi* B).

Que el título H sea superior a 1/100. Por lo general es indicativo de un título residual de anticuerpos como consecuencia de una infección pretérita o vacunación anterior, relativamente reciente (TAB). Hay que tener en cuenta que, si el enfermo ha sido tratado con cloranfenicol o corticoides, se puede inhibir el desarrollo de anticuerpos O. En este caso, la demostración, en una segunda prueba practicada 1 semana después, de un aumento significativo del título de anticuerpos H puede ser diagnóstica.

Tratamiento

Están indicados los antibióticos que se concentran en el sistema linfático, como el cloranfenicol y la ampicilina. El antibiótico más eficaz es el cloranfenicol. La aparición de brotes en México y países del Sudeste Asiático, por cepas resistentes al cloranfenicol (capas multirresistentes de tipo plasmídico), ha hecho que se empleara la ampicilina, amoxicilina y el cotrimoxazol, con buenos resultados.

Para el tratamiento de portadores crónicos se emplean antibióticos que se concentran y eliminan por la bilis, como la ampicilina o amoxicilina, que, administrados por vía oral durante 2-4 semanas, permiten obtener la esterilización del 70 % de portadores.

Epidemiología

La fuente de infección está constituida por los enfermos, las formas abortivas y los portadores, en especial los portadores crónicos (3 %), que presentan por lo general una colecistitis que muchas veces pasa inadvertida y pueden convertirse en eliminadores fecales durante varios años (portadores biliares). Son más frecuentes en el sexo femenino y aumentan con la edad, sobre todo cuando existen alteraciones de la vesícula biliar (cálculos). Constituyen el principal reservorio de la fiebre tifoidea endémica y muchas veces se encuentran en el origen de brotes epidémicos.

La transmisión se puede efectuar por contacto directo o indirecto a partir de enfermos o portadores, lo que constituye el principal mecanismo en la fiebre tifoidea endémica, o por diversos vehículos: *a)* El agua, cuando se contamina por las heces de enfermos o portadores (aguas residuales), que da lugar a epidemias explosivas (brotes holomiánticos) que afectan a la mayoría de consumidores. Los análisis bacteriológicos de potabilidad se basan en la demostración de *E. coli* (indicador de contaminación fecal) que señala la posible presencia en dicha agua de patógenos (*S. typhi, S. paratyphi* A y B) procedentes de las heces de enfermos o portadores; de ahí la importancia de la diferenciación bacteriológica de los géneros *Escherichia* y *Enterobacter*. *b)* La leche y derivados (quesos frescos, natillas), que producen pequeños brotes entre los consumidores. *c)* Los crustáceos, cuando se cultivan en aguas contaminadas (ostras, mejillones). *d)* Los vegetales de consumo en crudo, que han sido abonados con excretas de enfermos o portadores. En todos los casos, las moscas, cuando se posan en materiales contaminados y en los alimentos, facilitan la transmisión.

En los brotes de infecciones entéricas es muy importante la determinación del fagotipo en las bacterias aisladas de los enfermos (*S. typhi, S. paratyphi* A y B, *S. enteritidis* y *S. typhimurium*), pues permite definir el brote, conocer su extensión (enfermos en los que se aísla el mismo fagotipo) y siguiendo la cadena de infección en sentido retrógrado determinar su origen (portador, manipulador de alimentos).

Profilaxis

Lucha contra la fuente de infección

Se establece mediante el tratamiento de los enfermos y el diagnóstico y tratamiento de los portadores crónicos, en especial de los manipuladores de alimentos.

Lucha contra los mecanismos de transmisión

Se realiza mediante medidas de higiene personal, desinfección de excretas y ropas contaminadas, depuración bacteriológica de los abastecimientos de agua, alejamiento y tratamiento de las aguas residuales, pasteurización de la leche, prohibición de abonar con heces las verduras de consumo crudo, control de los criaderos de mejillones y ostras, y eliminación de las moscas.

En gran número de países, como consecuencia del establecimiento de abastecimientos de agua potable y de métodos de higienización de la leche, se ha producido la desaparición de la fiebre tifoidea epidémica con una gran reducción del número de casos. La fiebre tifoidea residual es mantenida por portadores crónicos, sobre todo manipuladores de alimentos. Mediante la revisión sanitaria periódica de los manipuladores de alimentos, tratando a los portadores y separándolos de las ocupaciones peligrosas, se aspira a lograr una reducción del número de casos; sin embargo, estas medidas son de aplicación difícil.

Protección de la población sana mediante la vacunación

Vacuna inactivada. Después de las pruebas de campo controladas realizadas en Yugoslavia, Guayana, Rusia y Polonia (1960-1965) bajo el patrocinio de la OMS, se recomienda el empleo de una vacuna monovalente preparada con la cepa Ty2 de *S. typhi*, inactivada por el calor y fenol o por la acetona, que contiene 10^9 microorganismos por mililitro y que se administra en 2 dosis separadas por 1 mes de intervalo (dosis de 0,25 ml para los niños de 2 a 10 años de edad y de 0,50 ml para los mayores de 10 años y adultos). La vacuna combinada TAB (*S. typhi, S. paratyphi* A y B) no mejora la eficacia y aumenta la reactividad.

La vacuna proporciona una protección del 80 % durante el primer año y del 50-60 % a los 3 años, y se aconseja administrar inyecciones de recuerdo cada 3-5 años. Las reacciones locales y generales se han reducido en frecuencia e intensidad.

Teniendo en cuenta que la medida fundamental para la prevención de la fiebre tifoidea es el saneamiento ambiental, la vacunación no se aconseja como medida general para la población, pero puede estar indicada con un criterio selectivo: *a)* para las personas en contacto con portadores crónicos por motivos familiares, laborales o que viven en zonas endémicas con elevada incidencia de fiebre tifoidea,

especialmente si existen cepas resistentes a los antibióticos y quimioterápicos; *b)* para las personas que se trasladan o viajan a zonas endémicas (colonias de verano, campamentos, vacaciones), y *c)* en casos de catástrofes (inundaciones, terremotos) como medida individual, ya que la indicación de vacunación masiva corresponde a las autoridades sanitarias.

La OMS ha señalado que, en las áreas endémicas, la vacuna podría incorporarse al calendario de vacunaciones sistemáticas de la infancia, asociada con la vacuna Td tipo adulto, practicando inyecciones de recuerdo cada 5 años.

Vacuna atenuada. Como la inmunidad en la fiebre tifoidea es fundamentalmente de tipo celular, se ha intentado la preparación de una vacuna atenuada, que, administrada por vía oral, indujera una buena respuesta humoral y celular, y fuera más eficaz que las vacunas inactivadas. A partir de la cepa Ty2 y por la acción de mutágenos, se ha aislado una mutante defectiva enzimática, incapaz de sintetizar una de las enzimas de la vía metabólica de la galactosa (epimerasa de la galactosa), que se ha demostrado avirulenta. Es la mutante gal E de *S. typhi* (cepa Ty 21a), que en los ensayos experimentales se ha demostrado estable y poco reactógena y ha permitido realizar una prueba de campo controlada en 16.000 niños, en Egipto. Los resultados obtenidos a los 3 años han demostrado que la administración por vía oral de 3 dosis con una tableta previa de bicarbonato induce una protección significativa.

BIBLIOGRAFIA

Aserkoff, B., y Bennett, J. V.: Effect of antibiotic therapy in acute Salmonellosis on the fecal excretion of *Salmonelleae*. N. Engl. J. Med., 281, 636, 1969.

Bennett, J. V., y Brachman, P. S. (dir.): Hospital Infections. Little, Brown, Boston, 1979.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Bostock, A. D.: Food-Borne Infections. R. Soc. Health J., abril, 1978.

Gilman, R. H.; Hornick, R. B.; Woodward, W. E.; Du Pont, H. L.; Snyder, M. J.; Levine, M. M., y Libonatti, J. P.: Evaluation of a UDP-glucosa-4-Epimeraseless Mutant of *Salmonella typhi* as a live oral vaccine. J. Infect. Dis., 136, 717, 1977.

Lawrence, R. M.; Goldstein, E., y Hoeprich, P. D.: Typhoid fever: Pathogenesis and Immunologic Control. N. Engl. J. Med., 283, 686, 1970.

Le Minor, L.; Veron, M., y Popoff, M.: Taxonomie des *Salmonella*. Ann. Microbiol. (I. Pasteur), 133B, 223, 1982.

MacGregor, R. R., y Reinhart, J.: Person to person spread of *Salmonella*. A problem in hospitals. Lancet, 2, 1001, 1973.

Pumarola, A.: Papel de los alimentos en los ciclos de infección por *Salmonella*. Ponencia Symposium: Intoxicaciones y toxiinfecciones alimentarias de origen bacteriano, Leon. Serv. Public. Univ. Oviedo, 109, 1974.

Snyder, M. J.: Comparative efficacy of chloramfenicol, ampicillin and cotrimoxazol in the treatment of typhoid fever. Lancet, 2, 1155, 1976.

Wahdan, M. H.; Serie, Ch.; Germanier, R.; Lackany, A.; Cerisier, Y.; Guerin, N.; Sallam, S.; Geoffroy, P.; Sadek El Tantawi, A., y Guesry, P.: A controlled field trial of live oral typhoid vaccine Ty 21 a. Bull. WHO, 58, 469, 1980.

WHO Scientific Working Group: Enteric infections due to *Campylobacter, Yersinia, Salmonella* and *Shigella*. Bull. WHO, 58, 519, 1980.

Capítulo 38

Shigella y Escherichia (E. coli productores de diarrea)

Agustín Pumarola

Shigella

CONCEPTO

El género *Shigella* está compuesto por enterobacterias inmóviles, que no fermentan la lactosa rápidamente ni producen desaminasas y que se definen en base a sus propiedades bioquímicas. Dentro del género se pueden diferenciar 4 especies o grupos principales, que a su vez se dividen en serotipos.

Se caracterizan por ser parásitos exclusivos del hombre, al que producen diarreas de intensidad y gravedad variable, y su cuadro más característico es el síndrome disentérico (disentería bacilar). Desde el punto de vista epidemiológico son infecciones muy contagiosas, que se presentan con especial frecuencia en aquellas poblaciones o zonas en que existe déficit en las condiciones de higiene personal y de sanidad ambiental.

Los estudios sobre el ADN han demostrado su gran semejanza con *E. coli*, pues en ocasiones son muy difíciles de diferenciar, pudiéndose considerar como variantes metabólicamente inactivas.

PROPIEDADES Y CLASIFICACION

Propiedades bioquímicas

Las *Shigella* se encuentran dentro del grupo de enterobacterias no fermentadoras rápidas de la lactosa, y se diferencian de las *Salmonella* por ser inmóviles y no producir gas ni SH_2, y de los *Proteus* por no producir ureasas ni desaminasas. Atendiendo a la fermentación del manitol se pueden clasificar en dos grupos metabólicos:

1. Grupo *manitol-negativo*, constituido por *S. dysenteriae*.
2. Grupo *manitol-positivo*, que a su vez se divide en:

a) Cepas que en general fermentan lentamente la lactosa, que incluyen *S. sonnei*.

b) Cepas que no fermentan la lactosa, que comprenden *S. flexneri* y *S. boydii*, cuya diferenciación se efectúa por sus caracteres bioquímicos (tabla 38-1) o análisis antigénico.

Tabla 38-1. Caracteres bioquímicos diferenciales de las especies del género Shigella

	S. dysenteriae	*S. flexneri*	*S. boydii*	*S. sonnei*
Manitol	–	+	+	+
Lactosa (ácido)	–	–	–	(+)
β-galactosidasa	d	–	d	+*
Ornitín-descarboxilasa	–	–	–	+

(+): Fermentación lenta y tardía.
d: Reacciones diversas.
*Algunas excepciones.

Estructura antigénica

Los bacilos disentéricos presentan:

1. Un antígeno O, lipopolisacárido termoestable, constituido por uno o varios factores antigénicos responsables de la especificidad.
2. Un antígeno capsular K, termolábil, que sólo lo presentan algunos serotipos y es responsable de la O-inaglutinabilidad.

La clasificación se efectúa sobre la base del antígeno somático O, y hay que tener en cuenta que, mientras en *S. dysenteriae*, *S. boydii* y *S. sonnei* está formado por un solo factor antigénico, en *S. flexneri* está compuesto por diversos factores, y pueden distinguirse antígenos mayores o principales que permiten dividir el grupo en serotipos y antígenos menores o secundarios que subdividen los serotipos en subtipos. Por otra parte, existen antígenos menores comunes con otras enterobacterias, especialmente con *E. coli*, responsables de errores en la identificación serológica de las cepas.

Clasificación

Atendiendo a sus propiedades bioquímicas y antigénicas, los bacilos disentéricos se han clasificado en cuatro grupos o especies (tabla 38-2).

Tabla 38-2. Clasificación del género Shigella

Grupo	Especie	Manitol	Ornitín-descarboxilasa	Lactosa	ONPG	Serotipos N.°	Serotipos Tipos
A	*S. dysenteriae*	–	–	–	d	10	1, *S. shigae* 2, *S. schmitzii* 3-7, grupo de Large-Sachs 8-10
B	*S. flexneri*	+	–	–	–	8	1-5 6, *S. newcastle-manchester* X, Y
C	*S. boydii*	+	–	–	d	15	
D	*S. sonnei*	+	+	(+)*	+*	1	17, bacteriocinotipos

*Algunas excepciones.
d: Reacciones diversas.

Grupo A (S. dysenteriae)

Comprende las *Shigella* manitol y lactosa-negativas, que por el antígeno somático se subdividen en 10 tipos antigénicos, que corresponden a antiguas denominaciones: el tipo 1 al bacilo de Shiga (*S. shigae*), el tipo 2 a *S. schmitzii* y del 3 al 7 al grupo de Large-Sachs. El tipo 1 produce β-galactosidasa y los tipos 2, 7 y 8, indol.

Grupo B (S. flexneri)

Fermenta el manitol, pero no la lactosa. Por sus antígenos mayores se divide en 6 tipos y, por sus antígenos menores, los tipos 1, 2 y 4 se dividen, a su vez, en dos subtipos cada uno (a y b). El tipo 6 corresponde a *S. newcastle-manchester*, que produce gas. Existen, además, otros dos tipos, X e Y, que sólo presentan antígenos menores de grupo.

Grupo C (S. boydii)

Al igual que los anteriores, es manitol-positivo y lactosa-negativo, pero se diferencia por no contener antígenos menores o de grupo, y se ha dividido en 18 serotipos.

Grupo D (S. sonnei)

Fermenta el manitol, produce ornitín-descarboxilasa y por lo general fermenta lentamente la lactosa. Desde el punto de vista antigénico constituye un grupo homogéneo, formado por 1 serotipo. Las cepas recién aisladas y virulentas forman colonias lisas (colonias de forma I), que en los cultivos se disocian dando lugar a colonias rugosas, que han perdido la virulencia y la fracción más externa del lipopolisacárido de la pared celular (colonias de forma II).

Sobre la base de la producción de bacteriocinas, *S. sonnei* se ha podido dividir en 17 tipos y a partir de un grupo de fagos seleccionados se ha efectuado también una clasificación en fagotipos.

El grupo *Alkalescens-dispar* que se clasificó en este género, en la actualidad se incluye en *Escherichia* sobre la base de sus propiedades antigénicas y metabólicas (fermentadores lentos de la lactosa), y se consideran como variantes inmóviles y no productoras de gas.

ACCION PATOGENA

Determinantes de la patogenicidad

Es debida a la acción de factores de virulencia y toxinas.

Factores de virulencia

Se supone que la virulencia en *Shigella* es debida a múltiples determinantes con intervención de genes cromosómicos y plasmídicos. En relación con la adherencia se ha demostrado, en *S. flexneri*, la presencia de adhesinas MS (fimbrias tipo 1) y, en algunas cepas, adhesinas MR probablemente localizadas en el lipopolisacárido de la membrana externa. En todas las cepas virulentas de *S. flexneri* y de *S. sonnei* se ha demostrado la presencia de una plásmido de 120-140 megadaltons, que codifica factores o antígenos superficiales (probablemente proteínas de la membrana externa) directamente relacionados con la capacidad de penetración en las células epiteliales. En *S. flexneri* se han demostrado factores cromosómicos que intervienen en la penetración (región pur E) y en la multiplicación (región xyl-rha). Pero, además, en los antígenos superficiales (fracción más externa del LPS) se conoce la existencia de factores de virulencia codificados por vía cromosómica (*S. flexneri*) o plasmídica (*S. sonnei*), cuyo papel no se encuentra claramente definido, y se ha sugerido que podrían estar relacionados con la presencia de compuestos secuestradores de hierro, que serían fundamentales para la capacidad de multiplicación de las bacterias en los tejidos, o con un aumento de su resistencia a los factores bactericidas del suero y de las secreciones, que facilitarían su capacidad de invasión a otras células.

Toxinas

S. dysenteriae tipo 1 contiene una exotoxina termolábil, de naturaleza proteica, que durante mucho tiempo se ha considerado como una neurotoxina, responsable de la gravedad del cuadro. Sin embargo, por ensayos de purificación se ha demostrado que es una toxina que presentaría propiedades neurotóxicas, citotóxicas o enterotóxicas, según la prueba utilizada. La toxina estaría compuesta por dos subunidades: la subunidad B que facilitaría la adherencia de las

células a la mucosa y la subunidad A que tendría función enzimática, inactivando los ribosomas 60S e inhibiendo la síntesis proteica. Actuaría por un mecanismo fundamentalmente citotóxico, responsable de la necrosis celular y formación de úlceras. Las parálisis que producen en los animales de experimentación se deben a su acción sobre el endotelio de los pequeños vasos y no se conoce su papel en la producción de una secreción líquida.

Probablemente todas las *Shigella* serían capaces de producir esta toxina, aunque en menor cantidad. La capacidad enteroinvasiva sería el factor determinante de la acción patógena, pues los estudios en voluntarios han demostrado que las cepas enterotoxígenas, que han perdido la capacidad invasiva, son incapaces de producir diarrea. La producción de toxina estaría en relación con la importancia y evolución de las lesiones.

Patogenia y cuadro clínico

Las *Shigella* ingresan por vía digestiva y, a diferencia de las *Salmonella*, la dosis infectiva es muy pequeña (10^1-10^2). En una primera fase, los gérmenes se desarrollan en el intestino delgado y pueden producir por acción de la toxina una diarrea líquida, que caracteriza la fase inicial. Al cabo de poco tiempo pasan al colon, donde se fijan y penetran en las células epiteliales, y se multiplican activamente en la lámina propia sin alcanzar la submucosa. Por acción citotóxica local se producen reacciones inflamatorias y necróticas de carácter piógeno, con formación de microabscesos y ulceraciones superficiales que afectan sólo la mucosa, que por lo general se recubren de una pseudomembrana constituida por restos de la mucosa necrosada, leucocitos, moco, hematíes y bacterias, úlceras que progresivamente se reemplazan por tejido de granulación. Los microorganismos no pasan a la sangre. En las infecciones por *S. dysenteriae* tipo 1 se produce la liberación de exotoxina en mayor cantidad, que difunde por vía sanguínea y produce alteraciones probablemente responsables de los cuadros graves.

El cuadro clínico es variable. En los casos típicos (síndrome disentérico) después de un período de incubación de 1-4 días, se produce fiebre con dolores abdominales, náuseas, vómitos y una diarrea líquida abundante, pero en el primero o segundo día desaparece la fiebre, la diarrea pierde su carácter acuoso y se hace más escasa, y aumenta el número de deposiciones, que pueden presentar el clásico aspecto en jalea de grosellas con moco, sangre y pus, aunque en la mayoría de los casos la sangre adopta un color oscuro, cuadro que por lo general cede espontáneamente a los 4-8 días.

Sin embargo, el cuadro clínico puede variar ampliamente según el microorganismo (*S. dysenteriae*) y sobre todo las condiciones del huésped. En los adultos, la infección muchas veces es asintomática o se manifiesta sólo por molestias intestinales ligeras, en ocasiones por cuadros de gastroenteritis trivial, muchas veces con moco, que en general pasan indiagnosticados. En los niños, por el contrario, pueden presentarse diarreas líquidas acompañadas de deshidratación. Las infecciones extraintestinales y bacteriémicas son excepcionales.

Hay que tener en cuenta que la disentería es un síndrome que puede ser producido por agentes diversos, protozoos (disentería amebiana), otras enterobacterias y virus.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Se efectúa fundamentalmente por aislamiento e identificación del microorganismo de las heces del enfermo.

Muestra

La obtención de la muestra es fundamental. Debe proceder de heces recientes obtenidas con hisopo rectal o mejor directamente, seleccionando las partículas del moco o las teñidas de sangre. En estas condiciones, si la muestra se obtiene en los primeros días de la enfermedad, el número de microorganismos es elevado y se pueden obtener cultivos casi puros. Al cabo de varios días, su número disminuye espontáneamente o a consecuencia del tratamiento; en estos casos es más difícil llegar a resultados positivos y es necesario a veces obtener directamente la muestra de los bordes de la ulceración por rectoscopia o sigmoidoscopia. La muestra debe ser transportada o procesada rápidamente, ya que las *Shigella* se inactivan con rapidez en las heces sobre todo cuando son ácidas; cuando no es posible, debe utilizarse un medio de transporte, con preferencia el medio de Teague y Clurman (solución salina glicerinada y tamponada).

Examen directo

La práctica de un frotis teñido por el método de Gram puede orientar el diagnóstico. La observación de numerosos polinucleares neutrófilos (células de pus) indica la existencia de una infección enteroinvasiva, y la presencia de moco o sangre sugiere infección por *Shigella*. En la disentería amebiana se observa un predominio de células mononucleares y la presencia de trofozoitos o quistes de *Entamoeba histolytica*.

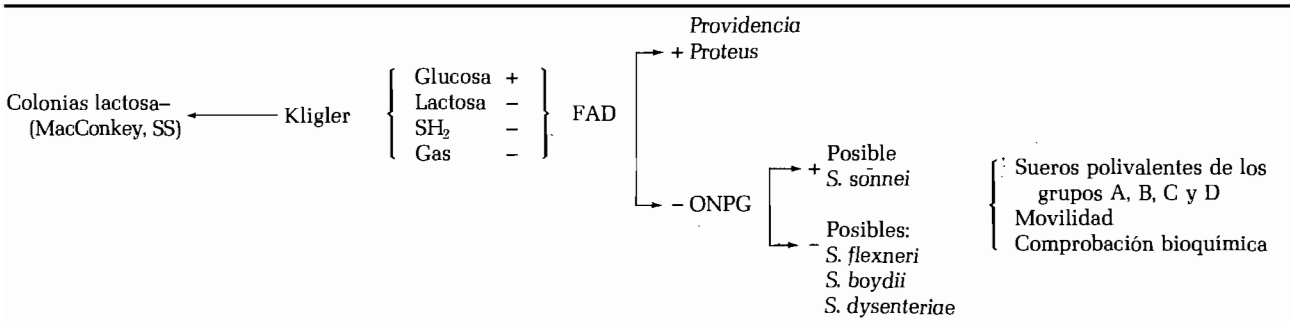
Aislamiento e identificación

Hay que tener en cuenta que, al igual que las *Salmonella*, son más resistentes que los bacilos coliformes a la acción bacteriostática de las sales biliares y, por el contrario, más sensibles a determinados colorantes, como el verde brillante que inhibe su crecimiento. En consecuencia no se desarrollan en el medio de enriquecimiento de Muller-Kauffmann (tetrationato), y en el caldo selenito F sólo crece un número reducido de cepas. Se aconseja sembrar una muestra reciente directamente en medios diferenciales poco selectivos (MacConkey, EMB) o moderadamente selectivos (SS, desoxicolato-citrato), que no contengan verde brillante. La práctica de un hisopo rectal y la siembra directa a la cabecera del enfermo suministra el máximo de resultados positivos.

Se seleccionan las colonias lactosa-negativas desarrolladas en los medios de aislamiento (MacConkey, SS), que se siembran en medio de Kligler (tabla 38-3), y se determina la producción de fenilalanín-desaminasa (FAD). Con las posibles *Shigella* (gas, SH_2 y fenilalanín-desaminasa-negativas) se determina la producción de β-galactosidasa (ONPG) y se ensayan con sueros polivalentes de los grupos A, B, C y D.

Por lo general se produce una aglutinación rápida y completa con uno de los sueros, que indica el grupo o especie

Tabla 38-3. Shigella. Marcha de identificación presuntiva



causal; en estos casos hay que comprobar que la cepa aislada presente los caracteres bioquímicos del género *Shigella*, para evitar la confusión con *E. coli*, pues algunos antígenos O pueden ser comunes, especialmente con las cepas enteroinvasivas. Cuando la aglutinación es negativa, puede ser debido: *a)* a la presencia de antígenos superficiales termolábiles (K), que inhiben la aglutinación O, y debe repetirse la aglutinación con la suspensión calentada (15 min a 100 °C); *b)* a cepas de *E. coli* inactivo que se identifican con el suero polivalente correspondiente, o c) a serotipos de *Shigella* no incluidos en el suero polivalente, que deben remitirse a un laboratorio de referencia para su correcta identificación.

Por otra parte, la enteroinvasividad de la cepa puede demostrarse por el test de Sereny. La instilación de un cultivo puro en el saco conjuntival del cobayo produce de 1 a 7 días después de la inoculación una inflamación de la conjuntiva con ulceración de la córnea (queratoconjuntivitis).

La demostración de anticuerpos en el suero del enfermo por reacciones de aglutinación cuantitativas tiene muy poco valor diagnóstico, pues no siempre se detectan anticuerpos, y cuando esto sucede, aparecen por lo general tardíamente y a títulos bajos. Además, en el suero de las personas sanas en las áreas endémicas existen con frecuencia anticuerpos, en especial frente a *S. sonnei* y *S. flexneri*, que son las especies más frecuentes. Por ello, sólo se consideran significativos los títulos elevados ($\geqslant$ 1/150) y se utilizan las reacciones serológicas fundamentalmente con fines epidemiológicos.

TRATAMIENTO

Mientras que en los casos graves existe acuerdo en aconsejar el tratamiento antibiótico, no ocurre lo mismo en los casos leves y moderados, pues, al ser una enfermedad autolimitada, desde el punto de vista individual basta una terapéutica sintomática para llegar a la curación, con lo que se evita la selección de cepas multirresistentes. Sin embargo, teniendo en cuenta que el hombre es el único reservorio, la infección, muy contagiosa y la dosis infectiva, muy pequeña, se considera que, desde el punto de vista comunitario, el tratamiento antibiótico es beneficioso, pues reduce la duración, la eliminación fecal y, por tanto la transmisión.

Las *Shigella* presentan una gran tendencia a adquirir resistencia a los antibióticos, generalmente de tipo plasmídico. Es frecuente la aparición de resistencia a las sulfamidas y a la estreptomicina y con menor frecuencia, además, a la ampicilina, tetraciclina y cloranfenicol (resistencia múltiple). Por ello, se aconseja realizar un antibiograma para determinar la sensibilidad de la cepa aislada y seleccionar el antibiótico más adecuado. La ampicilina, tetraciclina y cloranfenicol son los antibióticos de elección. Las cepas resistentes suelen ser sensibles al cotrimoxazol. Sin embargo, en nuestro medio, la mayoría de *S. sonnei* se han hecho resistentes a la ampicilina y cotrimoxazol.

EPIDEMIOLOGIA

El hombre constituye la única fuente de infección (heces), pero tienen mayor importancia que los enfermos las formas leves, inaparentes y los portadores, en especial los niños. Aunque la mayoría de portadores son temporales, se han descrito casos raros de portadores crónicos.

La infección se transmite por contacto directo y menos veces por contacto indirecto (manos sucias, alimentos y objetos recientemente contaminados), dada su labilidad a los agentes externos. Las moscas coadyuvan de manera importante en la transmisión.

En las regiones desarrolladas, el principal mecanismo de transmisión es el contacto directo de persona a persona, por vía fecal-oral, ya que la dosis infectiva es muy baja. En los países en vías de desarrollo intervienen, además, el agua y los alimentos, y cuando no hay facilidades para el alejamiento y tratamiento de las excretas y aguas residuales, las moscas tienen un papel importante en la transmisión.

La frecuencia de estas infecciones está relacionado con el grado de higiene personal y de sanidad ambiental. Se ha observado que, en las zonas en vías de desarrollo, las infecciones por *S. flexneri* son más frecuentes que por *S. sonnei*, y se presentan, además, infecciones por *S. dysenteriae* y *S. boydii*, mientras que en los países desarrollados predominan las infecciones por *S. sonnei*, le siguen las por *S. flexneri* y las demás son excepcionales. Se pueden presentar casos esporádicos en forma endémica o pequeños brotes institucionales en guarderías, escuelas, asilos, manicomios, cárceles y aquellos núcleos de población que viven en malas condiciones higiénicas. La disentería epidémica ha constituido uno de los grandes azotes de la humanidad; hubo un tiempo en que fue una infección epidémica muy grave que seguía a los ejércitos en los campos de batalla; en la actualidad, aun cuando la afección es más benigna, continúa siendo muy frecuente y desorganiza las unidades militares, de tal manera que para Zinsser habría sido un factor decisivo en múltiples batallas de la historia.

PROFILAXIS

Las medidas profilácticas se dirigen a:

1. Esterilización de las fuentes de infección, mediante el tratamiento de enfermos y portadores, en especial de los manipuladores de alimentos, y la desinfección de las excretas. Es una medida difícil de aplicar, ya que las formas leves y los portadores pasan en gran parte inadvertidos.
2. Interrupción de la transmisión, por la adopción de medidas de higiene personal, que se pueden complementar con las de saneamiento ambiental, como el control sanitario del agua, aguas residuales, leche y alimentos, y lucha contra las moscas. A este respecto el cuidadoso lavado de las manos y las adecuadas medidas de educación sanitaria son fundamentales.

Vacunas

Aunque después de la enfermedad existe cierto grado de inmunidad frente a las reinfecciones, como ocurre con los habitantes de las áreas endémicas, no parece que esté relacionado con la presencia de anticuerpos séricos, sino más bien con la existencia de fenómenos de inmunidad local intestinal de tipo humoral o celular.

Por ello, las vacunas inactivadas administradas por vía parenteral no han dado buenos resultados, y se encuentran en la actualidad en período de ensayo diversas vacunas preparadas con cepas atenuadas que se toman por vía oral.

Se han obtenido mutantes avirulentas que han perdido la capacidad de penetración en las células epiteliales e híbridos con capacidad de multiplicación reducida. También a partir de cepas estreptomicino-dependientes, se ha preparado una vacuna polivalente, que, administrada por vía oral en 3-4 dosis, previa la adición de bicarbonato para neutralizar la acidez gástrica, induce una proteción significativa frente a la enfermedad de 6 a 12 meses de duración. La administración de una dosis de recuerdo por vía parenteral incrementa la protección y se ha aconsejado para la inmunización en instituciones cerradas. Recientemente se ha podido transferir el plásmido de 120 Mdaltons responsable de la virulencia en *Shigella* (especialmente S. *sonnei*) a la mutante avirulenta gal E de S. *typhi*, lo que ha permitido construir una cepa bivalente que ha demostrado su acción protectora en los animales. Si se comprueba su eficacia en el hombre, abrirá, además, la posibilidad de preparar vacunas frente a otras bacterias enteroinvasivas (*E. coli*, *Yersinia enterocolitica*).

Escherichia (E. coli productores de diarrea)

CONCEPTO

El género *Escherichia* y su principal especie, *E. coli*, están constituidos por enterobacterias móviles que fermentan la lactosa (bacilos coliformes) y la glucosa, con producción de gas y ácidos diversos (fermentación ácido-mixta), y que presentan una respuesta característica al grupo de pruebas IMVIC (+ + – –).

Son bacilos gramnegativos (fig. 38-1) poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a los agentes externos, que se cultivan en medios comunes, incluso a temperaturas de 45 °C, lo que permite diferenciarlos de los demás coliformes.

Fig. 38-1. *E. coli.* Microscopio electrónico (× 2.500).

Forman la mayor parte de la flora comensal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo, y se eliminan por las heces al exterior. Por esto, no es infrecuente que se encuentren en el medio ambiente, donde son capaces de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento constituye un indicador de contaminación fecal reciente. Por otra parte, pueden intervenir en procesos patológicos como patógenos verdaderos en la producción de cuadros intestinales con diarrea o como oportunistas en infecciones extraintestinales diversas, que también pueden ser producidas por otras enterobacterias (fig. 38-2).

ESTRUCTURA ANTIGENICA

Presentan antígenos somáticos (O), capsulares (K), flagelares (H) y en las fimbrias (F). Los antígenos capsulares se han dividido a su vez en 3 clases L, A y B, pero esta clasificación ha sido revisada, recomendando la supresión del antígeno B, que nunca se ha podido separar del antígeno O ni demostrar su individualidad, y la conversión del antígeno proteico L en antígeno F por haberse demostrado que corresponde a fimbrias, de manera que el antígeno K quedaría limitado al antígeno polisacárido acídico.

En la actualidad se conocen 167 antígenos O, 103 antígenos K, 75 antígenos H y alrededor de 12 antígenos F, que han permitido establecer una clasificación de *E. coli* en grupos O y serotipos, algunos de los cuales están relacionados con cuadros patológicos (grupos O asociados con procesos diarreicos o con infecciones urinarias, serotipo K1 con sepsis y meningitis neonatales).

Fig. 38-2. Gastroenteritis. Deshidratación. (Por cortesía de M. Cruz Hernández, Departamento de Pediatría, Hospital Clínico y Provincial, Barcelona.)

ACCION PATOGENA

Determinantes del poder patógeno

Actúan algunos antígenos superficiales, toxinas y posiblemente fermentos.

Antígenos

Las fimbrias actúan por su capacidad de adherencia. Las fimbrias tipo 1 o manosa-sensibles (MS) son muy ubicuas y se encuentran en la mayoría de *E. coli*, que se aíslan de heces normales (70-80 %). Se considera que facilitan la adherencia al moco del intestino grueso y al moco urinario, que en gran parte está constituido por la glicoproteína de Horsfall y Tamm. Las fimbrias manosa-resistentes (MR), denominadas también factores de colonización (CFAI, CFAII y E8775), facilitan la fijación en receptores específicos de las células de la mucosa intestinal.

Por otra parte, los antígenos O y K presentan propiedades antifagocitarias e inhibidoras de las sustancias bactericidas del suero y son responsables de la virulencia de las cepas invasivas, cuyas síntesis está codificada por plásmidos de elevado peso molecular (140 Mdaltons).

Toxinas

Al igual que todas las enterobacterias, presentan una endotoxina ligada al lipopolisacárido, en especial al lípido A, responsable de la acción pirógena y probablemente de las alteraciones vasculares que se producen en las infecciones generalizadas. Pero, además, algunas cepas pueden producir exotoxinas responsables de la producción de diarreas, cuya síntesis está codificada por la presencia de plásmidos (plásmidos Ent), que a su vez pueden contener genes asociados con la capacidad de adherencia y otras propiedades (producción de colicinas, hemolisinas y resistencia a los antibióticos).

Se conoce la existencia de una enterotoxina termolábil (TL) y antigénica, de PM 86.000, semejante a la enterotoxina de *Vibrio cholerae* (colerágeno), que actúa activando la adenilciclasa, la cual a su vez transforma el ATP en AMP cíclico, produciendo un aumento de la secreción de agua y electrólitos. Puede existir, además, una toxina termoestable (TS), de bajo peso mocular (PM 1.900) y no antigénica, que también produce acumulación de líquidos en el intestino, por un mecanismo distinto y poco conocido, probablemente por la vía de la guanilciclasa. Estas toxinas no producen alteraciones tóxicas ni anatómicas del enterocito, pero sí de tipo funcional (enterotoxinas citotónicas), siendo una característica de los *E. coli* enterotoxígenos.

Por otra parte, existen cepas de *E. coli* caracterizadas por su capacidad de penetrar e invadir las células del epitelio intestinal (*E. coli* enteroinvasivos). Se considera que la capacidad de penetración es debida a la presencia de antígenos superficiales, en especial de proteínas de la membrana externa, cuya síntesis está codificada por plásmidos de 140 Mdaltons, al igual que se ha demostrado en el género *Shigella*. Por otra parte, se ha sugerido en algunos *E. coli* enteropatógenos (0, 26) la posibilidad de producción de enterotoxinas semejantes a las producidas por *S. dysenteriae* 1 (enterotoxinas citotóxicas), que presentarían una acción tóxica directa sobre las células del epitelio intestinal, responsable de la destrucción de las microvellosidades del enterocito y de la producción de diarrea. También se ha demostrado que el serotipo 0 157 produce una enterotoxina citotóxica (Verotoxina) sobre las células endoteliales de los vasos responsables de diarreas hemorrágicas.

Fermentos

Algunas cepas de *E. coli* son hemolíticas y se han descrito dos hemolisinas, una asociada al soma bacteriano y otra difusible, cuya importancia como determinantes de la patogenicidad no se conoce.

Cuadros clínicos

Como patógeno primario, *E. coli* puede producir infecciones intestinales con diarrea y, como oportunista, cuadros extraintestinales diversos, que también pueden ser producidos por otras bacterias oportunistas.

Infecciones intestinales con diarrea

E. coli constituye una de las causas más importantes de diarrea en el recién nacido y también en el adulto. Las investigaciones realizadas en el último decenio han permitido demostrar la existencia de tres grupos de *E. coli* que pueden intervenir en la producción de diarreas (tabla 38-4).

E. coli enteropatógenos. Son los conocidos de más antiguo. Cuando a partir de los trabajos de Kauffmann y cols. se estableció una clasificación adecuada de *E. coli*, pudo demostrarse una correlación entre determinados serotipos y los brotes de gastroenteritis infantil, que se venían observando a partir de 1950 en la mayoría de países desarrollados. Se presentaban fundamentalmente en los lactantes y

Tabla 38-4 E. coli enteropatógenos, enterotoxígenos, enterohemorragicos y enteroinvasivos. Características más importantes

	Enteropatógenos	Enterotoxígenos	Enterohemorrágicos	Enteroinvasivos
Cuadros	Diarreas infantiles (GEI)	Diarreas infantiles, diarrea de los viajeros	Diarreas hemorrágicas	Diarreas disenteriformes
Período	1950-1960	1968 ⟶	1983 ⟶	1975 ⟶
Edad	Lactantes y niños pequeños	Niños y adultos	Adultos y niños	Adultos y niños
Países	Desarrollados	En vías de desarrollo	Desarrollados	Diversos
Epidemiología	Brotes epidémicos	Casos esporádicos, brotes epidémicos	Casos esporádicos y brotes	Casos esporádicos, brotes epidémicos
Grupos O más frecuentes	26, 55, 86, 111, 119, 125, 126, 127, 128	6, 8, 15, 20, 25, 63, 78, 80, 85, 115, 128, 148, 159, 167	O 157	28ac, 29, 42, 112ac, 124, 136, 143, 144, 152, 164
Adherencia	Adhesinas MR	Fimbrias MR (CFAI, CFAII, E8775)	–	–
Mecanismo	Posible enterotoxina citotóxica semejante a *Shigella*	Enterotoxinas TL y/o TS Plásmidos Ent	Enterotoxina citotóxica (Verotoxina), *S. dysenteriae* 1 (cepa lisógena)	Capacidad de penetración Plásmidos de 140 Mdaltons (posible enterotoxina citotóxica)

niños pequeños durante los meses de verano en forma de brotes epidémicos en las salas de pediatría de los hospitales y maternidades, con una mortalidad elevada, y estaban producidos por determinados serotipos pertenecientes a 17 grupos O; los más frecuentes eran los grupos O 26, 55, 86, 111, 119, 125, 126, 127, 128 y 142, asociados muchas veces con determinados antígenos K y H. No pudo demostrarse su intervención en casos esporádicos, y en el adulto sólo se han descrito escasos brotes. El papel etiológico de estos serotipos fue difícil de demostrar y se estableció sobre la base de datos clínicos, epidemiológicos y pruebas de inoculación en voluntarios sin que se llegara a conocer su mecanismo de acción. Sin embargo, más tarde se observó en los ensayos experimentales la presencia de lesiones histológicas características, constituidas por numerosas bacterias o microcolonias fuertemente adheridas a la mucosa con destrucción de las microvellosidades de los enterocitos (lesión en pedestal o copa) sin que se produjera invasión, debido probablemente a la presencia de adhesinas MR codificadas por un plásmido de 55-72 Mdaltons. En estas cepas no se han detectado enterotoxinas TL o TS, pero se ha demostrado una toxina semejante a la producida por *Shigella*. La frecuencia y gravedad de estas infecciones han disminuido progresivamente a partir de 1960, de manera que en la actualidad apenas se detectan en los países más desarrollados, pero aún se observan casos, incluso de cierta gravedad, en otros países (Argentina, Brasil, Unión Sudafricana).

E. coli enterotoxigénico. Por otra parte, a partir de 1968 se ha demostrado la existencia de cepas de *E. coli* productoras de enterotoxina, responsables de cuadros de diarrea en verano. Son la causa de gastroenteritis infantiles, en los países en vías de desarrollo, especialmente en los menores de 2 años, con menos frecuencia en los adultos (diarrea de tipo colérica), y también de los cuadros que se presentan en los viajeros que visitan estos países (diarrea de los viajeros). Con menos frecuencia se han demostrado casos en países desarrollados.

Las cepas enterotoxígenas pueden producir los dos tipos de enterotoxinas (TL o TS) o sólo uno de ellas, debido a la presencia de plasmidos Ent. Aunque teóricamente cualquier serotipo podría ser portador de plasmidos Ent y producir, por tanto, enterotoxinas, en la practica se ha observado que sólo las cepas de algunos serogrupos O las producen con frecuencia (6, 8, 15, 20, 25, 63, 78, 80, 85, 115, 128, 148, 159, 167), lo que hace suponer que determinados serotipos están mejor adaptados para ser portadores de estos plásmidos. Por otra parte, las cepas enterotoxígenas presentan fimbrias con adhesinas MR, específicas de especie, que facilitan la adherencia. Se han denominado antígenos K en las cepas de origen animal y factores de colonización (CFA) en las cepas humanas, pero se tiende a designarlo como antígenos F. Se conocen los antígenos K88 (F2), K99 (F3) y 987 (F4), que se encuentran en las cepas patógenas para los animales (lechones y terneros), y los factores de colonización en las cepas patógenas para el hombre CFAI o F5 (más frecuentes en los serogrupos O 15, 25, 63, 78, 128), CFAII o F6 (6, 8, 80, 85) y E8775 (25, 115, 167).

La mayoría de cepas enterotoxígenas producen ambos tipos de toxina y el 70 % presentan fimbrias MR. También se han detectado fimbrias tipo 1 en la misma proporción que en los *E. coli* de la flora normal.

La ingesta con el agua o los alimentos de una dosis elevada de estos microorganismos (10^7-10^9) facilita su adherencia (factor de colonización o fimbrias MR) a las microvellosidades de las células epiteliales del intestino delgado, la toxina producida se fija en el receptor celular (ganglíosido GM1) estimulando la adenilciclasa, que por vía del AMP cíclico produce un aumento de secreción de líquido y electrólitos (cloro y sodio) a la luz intestinal. En consecuencia, se produce una diarrea, cuadro que puede variar desde formas leves a graves con diarrea líquida de tipo coleriforme. Por lo general, el cuadro se resuelve espontáneamente y no precisa la administración de antibióticos.

E. coli enterohemorrágico. Recientemente (1983) se ha demostrado que el serotipo de *E. coli* O 157 H7 se encuentra asociado en cuadros y brotes de colitis hemorrágica que se han presentado en niños y adultos, en Estados Unidos, como consecuencia del consumo de hamburguesas poco cocidas. Este serotipo produce una citotoxina para las células Vero (Verotoxina) que parece semejante a la producida por *S. dysenteriae*, que se supone que tendría acción sobre las células endoteliales de los vasos sanguíneos.

E. coli enteroinvasivos. Asimismo se ha demostrado que algunas cepas de *E. coli* presentan la propiedad de penetrar e invadir las células del epitelio intestinal, dando lugar a

diarreas de tipo disenteriforme en adultos y niños, semejantes a las producidas por *Shigella*. Estas cepas pertenecen a los serogrupos 28ac, 29, 42, 112ac, 124, 136, 143, 144, 152 y 164. Los más conocidos son los serogrupos 124 y 164, que se han aislado a partir de casos esporádicos y brotes epidémicos por alimentos contaminados en diversos países (Europa Oriental, Extremo Oriente, América Central y del Sur). Con frecuencia presentan caracteres atípicos (son inmóviles, fermentan la lactosa lentamente o no la fermentan, no producen gas ni lisín-descarboxidasa) y antígenos comunes con *Shigella*, lo que hace suponer que en el pasado se hayan confundido con *Shigella*. Estas cepas se demuestran con rareza en los países desarrollados.

Infecciones extraintestinales

Por otra parte, *E. coli* puede producir infecciones oportunistas fuera del tubo digestivo, cuando se presentan factores predisponentes:

1. Es una de las causas más frecuentes de infecciones urinarias (cistitis, pielonefritis y bacteriurias asintomáticas).
2. También interviene en infecciones biliares (colecistitis), peritoneales (peritonitis, abscesos abdominales) y meníngeas (meningitis).
3. Produce infecciones de las heridas (abscesos) y mucosas (otitis, sinusitis).
4. Causa procesos generalizados, bacteriemias y sepsis.

Estas infecciones ocurren cuando existen factores predisponentes, como obstrucciones, estasis de las vías urinarias o biliares (cálculos, intervenciones, cateterismos) y los mecanismos naturales de defensa son poco activos, como ocurre en el recién nacido y prematuros, o se inhiben o anulan por cualquier causa (enfermedades crónicas, tumorales, enfermos de edad avanzada, tratamientos con corticoides, inmunodepresores y citostáticos). Merecen especial mención las meningitis y sepsis neonatales, que se presentan en recién nacidos y prematuros en las primeras semanas de vida, producidas en su mayoría por *E. coli* K1, y en las que también pueden intervenir los estreptococos del grupo B. También pueden dar lugar a sepsis en personas de edad avanzada, con enfermedades crónicas, irradiadas o tratadas con inmunodepresores.

Diagnóstico bacteriológico

A partir de la muestra de heces se practica un frotis que se tiñe por el método de Gram, el cual permite observar un predominio de bacilos gramnegativos y eventualmente la existencia de pus (leucocitos polinucleares), que indica la presencia de bacterias invasivas, a diferencia de las enterotoxígenas.

El cultivo se efectúa en placas de agar-sangre o en medios diferenciales poco selectivos (EMB, MacConkey), seleccionando las colonias fermentadores de la lactosa y procediendo a su identificación por pruebas metabólicas (tablas 37-5 y 39-1).

El papel etiológico del *E. coli* aislado se deducirá de su predominio en el producto patológico, de la ausencia de todo otro patógeno conocido y eventualmente de la demostración de propiedades enterotoxígenas o enteroinvasivas o por pertenecer al grupo de *E. coli* enteropatógenos.

Tabla 38-5. Pruebas para la determinación de las enterotoxinas TL y TS de E. coli

Enterotoxina	Método	Resultado
TL y TS	Inyección al asa ileal ligada del conejo adulto	Dilatación con acumulación de líquido
TS	Administración oral al conejo lactante	Acumulación de líquido en el intestino
TS	Inoculación directa al estómago del ratón lactante	Acumulación de líquido en el intestino
TL	Inmunohemólisis radial	Hemólisis de hematíes de carnero
TL	Cultivo de células Y1 (tumor adrenal)	Redondeamiento de las células de cultivo
TL	Cultivo de células CHO (ovario de hámster chino)	Elongación de las células de cultivo

Los *E. coli* enteropatógenos se reconocen por métodos de tipado serológico identificando los antígenos O y K mediante pruebas de aglutinación cualitativas y cuantitativas con sueros específicos, que en la actualidad por su escasa frecuencia e interés apenas se realizan.

En los *E. coli* enterotoxígenos, para la demostración de enterotoxinas se pueden utilizar diversas pruebas (tabla 38-5); el modelo clásico ha sido la inoculación del asa ileal de conejo aislada y ligada, que produce una respuesta secretora, de manera que el asa se dilata y se llena de líquido por estímulo funcional (fig. 38-3). La toxina termolábil se puede demostrar también por los cambios morfológicos que produce en los cultivos de células Y1 de tumor adrenal del ratón (redondeamiento) o de células ováricas (CHO) de hámster chino (elongación) (fig. 38-4) y por métodos inmu-

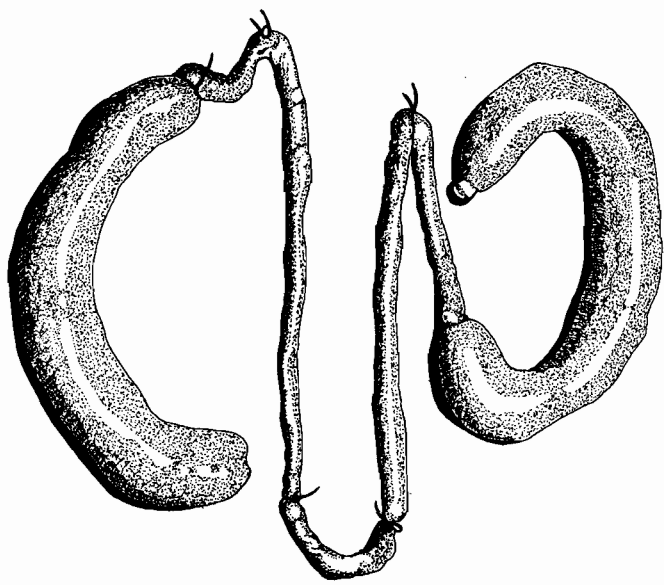
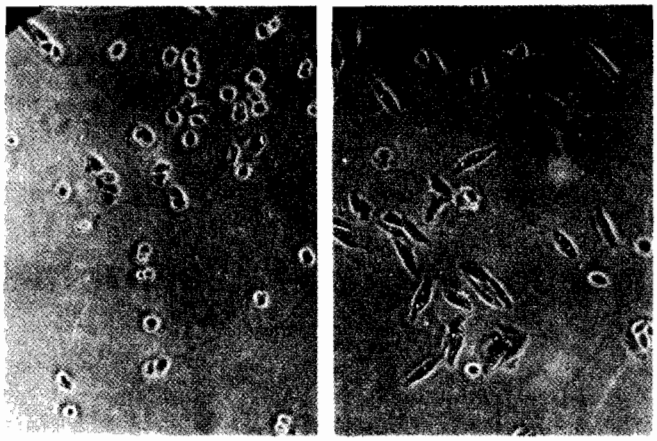


Fig. 38-3. Inoculación del asa ileal de conejo aislada y ligada para la demostración de enterotoxina de *E. coli*. Se observan segmentos de asas normales y otros dilatados por acumulación de líquido.



A B

Fig. 38-4. Cultivo de células CHO (células de ovario de hámster chino). A) Cultivo de células normales. B) Células alargadas, después de 24 horas de incubación con un filtrado de cultivo de *E. coli* enterotoxígeno. (Tomado de Guerrant, R.L., y cols.: Infect. Inmun., 10, 320-327, 1974.)

nológicos frente a un suero antitóxico de referencia (inmunohemólisis radial, ELISA, RIA). La toxina termoestable puede detectarse por inoculación en el estómago o intestino del ratón lactante, donde produce una respuesta secretora.

Los *E. coli* enteroinvasivos se reconocen por su capacidad de penetrar e invadir las células de la conjuntiva y córnea del cobayo, produciendo una queratoconjuntivis (test de Sereny); por instilación del saco conjuntival, de 1 a 7 días dan lugar a la aparición de un ojo hiperémico y edematoso (figura 38-5). Por inoculación en cultivos de celulas HeLa o KB se observa a las pocas horas la presencia de bacterias intracelulares y más tarde la destrucción de la capa monocelular (fig. 38-6).

Estas pruebas de diagnóstico biológico son difíciles de realizar en los laboratorios clínicos. Sin embargo, teniendo en cuenta la buena correlación que existe con determinados grupos O, se ha sugerido que podría ser de interés para la identificación presuntiva de los *E. coli* productores de diarreas el empleo de tres mezclas o *pools* de antisueros preparados frente a los serogrupos o serotipos más frecuentes de las cepas enteropatógenas, enterotoxígenas y enteroinvasivas.

Tratamiento

En las diarreas por *E. coli* enterotoxígenos se ha podido observar que es mucho más importante llevar a cabo el tratamiento paliativo de rehidratación y restauración del balance electrolítico que la administración de antibióticos, que por lo general es poco eficaz, aunque puede reducir la infectividad.

Sin embargo, en los brotes graves en salas de recién nacidos o lactantes, producidos por *E. coli* enteropatógenos, se aconseja administrar por vía oral neomicina durante 3-5 días o colistina en casos de resistencia.

En los *E. coli* enteroinvasivos parece eficaz la administración de ampicilina aun cuando se produce la curación sin la administración de antibióticos.

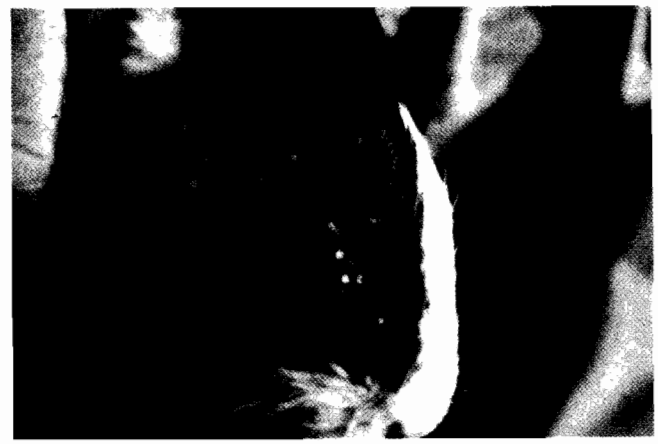


Fig. 38-5. Prueba de Sereny positiva.

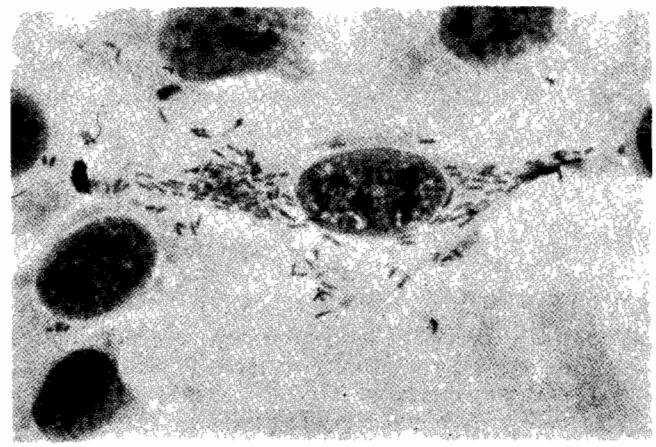


Fig. 38-6. Cultivo de células HeLa con numerosos *E. coli* intracelulares.

Para prevenir la «diarrea de los viajeros» en las personas que viajan a las áreas endémicas, se ha aconsejado la administración de 100 mg diarios de doxiciclina.

En los cuadros extraintestinales producidos por *E. coli* oportunistas, son importantes la selección y administración de un antibiótico eficaz, deducido del antibiograma, asociado con el tratamiento de los factores predisponentes o el tratamiento de la enfermedad de base que condiciona el oportunismo (cap. 39).

BIBLIOGRAFIA

Du Pont, M. L.: Formal, S. B.; Hornick, R. B.; Snyder, M. J.; Libonati, J. P.; Sheahan, D. G.; Labrec, E. H., y Kalas, J. P.: Pathogenesis of *E. coli* diarrhea. N. Engl. J. Med., 285, 1, 1971.

Gemski, P., y Formal, S. B.: Shigellosis: an invasive infection of the gastroduodenal tract. Microbiol., 44, 165, 1975.

Gorbach, S. L.; Kean, B. H.; Evans, D. G., y Bessudo, D.: Traveler's diarrhoea and toxigenic *E. coli*. N. Engl. J. Med., 292-933, 1975.

Keusch, G. T., y Jacewicz, M.: The pathogenesis of *Shigella* toxins and antitoxins in *S. flexneri* or *S. sonnei* infections in humans. J. Infect. Dis., 135, 552, 1977.

Orskov, F.: Virulence factors of the bacterial surface. J. Infect. Dis., 137, 630, 1978.

Rowe, B.: The role of *E. coli* in gastroenteritis. Clin. Gastroenterol., 8, 625, 1979.

Sack, R. B.: Human diarrhoeal disease caused by enterotoxigenic *E. coli*. Ann. Rev. Microbiol., 29, 333, 1975.

Sansonetti, P. J.; Kopecko, D. J., y Formal, S. B.: *Shigella sonnei* plasmids. Evidence that a large plasmid is necessary for virulence. Infect. Immun., 34, 75-83, 1981.

Sansonetti, P. J.; D'Hauteville, H.; Formal, S. B., y Toucas, M.: Plasmid mediated invasiveness of «Shigella-like» *E. coli*. Ann. Microbiol. (I. Pasteur), 132A, 351, 1982.

Thorne, G. M., y Gorbach, S. L.: Shigella vaccines, Shigella pathogens. J. Infect. Dis., 136, 601, 1977.

WHO Memorandum: Intestinal immunity and vaccine development. Bull. WHO, 57, 719, 1979.

WHO Scientific Working Group: *Escherichia coli* diarrhoea. Bull. WHO, 58, 831, 1980.

Capítulo 39

Enterobacterias oportunistas

Agustín Pumarola

CONCEPTO

Las enterobacterias, dejando aparte las especies patógenas, se encuentran en el origen de gran número de infecciones oportunistas y, junto con las *Pseudomonas*, constituyen el problema más importante en los hospitales (40-70 % de infecciones hospitalarias).

Las enterobacterias oportunistas en su mayoría forman parte de la flora normal del tubo digestivo o proceden del medio externo. Se caracterizan por presentar exigencias nutritivas escasas y ser relativamente resistentes a los agentes externos y a un gran número de antibióticos. Por ello, son muy ubicuas, difunden en el medio ambiente, forman parte de la flora hospitalaria y son capaces de sobrevivir en medios mínimos y aun de colonizar la piel y mucosas de los enfermos hospitalizados.

Su acción patógena es escasa, pero puede manifestarse cuando se produce un aumento de susceptibilidad del huésped, debido a una disminución o inhibición de sus mecanismos defensivos, ya de las defensas externas por alteraciones anatómicas o fisiológicas de la piel y mucosas (introducción directa de microorganismos por heridas, quemaduras, punciones, catéteres urinarios e intravenosos) o de las defensas generales del organismo, como consecuencia de la propia enfermedad o de los tratamientos a que ha sido sometido (corticoides, radiaciones, citostáticos).

Corresponden en su mayoría a los llamados «bacilos coliformes», grupo heterogéneo de enterobacterias fermentadoras rápidas y lentas de la lactosa, que incluyen los géneros *Escherichia, Klebsiella-Enterobacter-Serratia-Hafnia* y *Citrobacter*, a los que se añaden algunas no fermentadoras, como *Proteus, Morganella, Providencia, Edwardsiella* y los géneros de reciente adquisición.

Los bacilos coliformes sobre la base del grupo de pruebas IMVIC suelen mostrar una primera diferenciación en dos grupos principales claramente diferenciados y uno o dos grupos intermedios (tabla 39-1).

Los géneros *Proteus, Morganella* y *Providencia* se reconocen por producir desaminasas (FDA o TDA).

Tabla 39-1. Diferenciación de los bacilos coliformes por el grupo de pruebas IMVIC

I	M	V	C	
+	+	–	–	*E. coli (Edwardsiella)*
–	–	+	+	*Enterobacter, Serratia* y *K. pneumoniae*
±	+	–	+	*Citrobacter*
+	–	+	+	*K. oxytoca*

GENEROS MAS IMPORTANTES, PROPIEDADES Y CLASIFICACION

Escherichia

Enterobacterias que fermentan la lactosa y la glucosa, con producción de diversos ácidos y gas (fermentación ácido-mixta) y pruebas IMVIC características (++––) (tabla 39-1). *E. coli* se describe en el capítulo 38.

Klebsiella, Enterobacter, Serratia y Hafnia

Enterobacterias que fermentan la lactosa (coliformes) y la glucosa con producción de acetoína (fermentación butilenglicólica) y pruebas IMVIC (––++) que permiten separarlos de *Escherichia* y *Citrobacter*.

Se diferencian (tabla 39-2) en cepas inmóviles *(Klebsiella)* y cepas móviles *(Enterobacter, Serratia* y *Hafnia)*, y *Serratia* se caracteriza porque, además, produce ADNasas. El género *Hafnia* presenta caracteres semejantes a *Enterobacter* y se diferencia porque su motilidad y la mayoría de características bioquímicas (VP, nitratos, citrato) se manifiesta con mayor claridad a 22 °C.

Son enterobacterias comensales o saprofitas del medio ambiente, resistentes a los agentes externos, muy poco exigentes en sus necesidades nutritivas, capaces de crecer y desarrollarse en medios mínimos y producir infecciones en el hombre. Aunque *Klebsiella* puede producir en ocasiones infecciones en personas sanas, en su mayoría producen infecciones oportunistas, especialmente en los enfermos hospitalizados, caracterizadas por su resistencia a los antibióticos.

Klebsiella

Son enterobacterias inmóviles (fig. 39-1), en su gran mayoría productoras de ureasa, que se caracterizan por la

Tabla 39-2. Diferenciación de los géneros Klebsiella, Enterobacter, Serratia y Hafnia

Género	Motilidad	Ureasa	ODC	ADNasa	Pigmento	LDC
Klebsiella	–	+	–	–	–	+
Enterobacter	+	–	+*	–	–	d
Serratia	+	–	+*	+	d	+
Hafnia	+	–	+	–	–	+

ODC: Ornitín-descarboxilasa.
LDC: Lisín-descarboxilasa.
*Negativa en *E. agglomerans* y *S. rubidaea*.
d: Reacciones diversas.

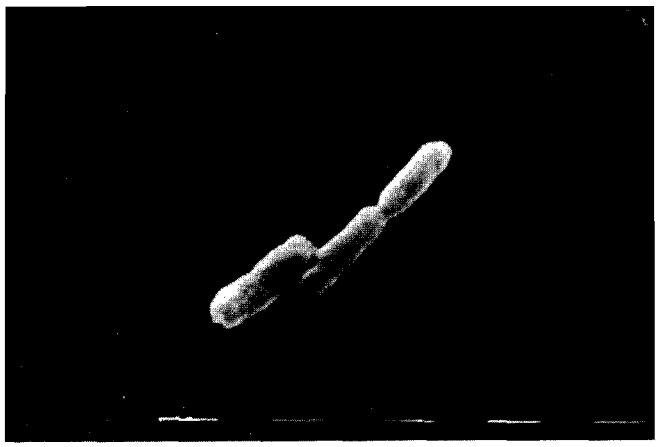


Fig. 39-1. *Klebsiella pneumoniae*. Microcospia electrónica (× 10.000).

presencia de una cápsula y la formación de colonias mucosas en medio sólido. Presentan un antígeno capsular K y un antígeno somático 0, que por pruebas de aglutinación o de hinchamiento de la cápsula ha permitido dividir el género en 11 grupos 0 y 80 tipos K, algunos de los cuales presentan reacciones cruzadas con los polisacáridos capsulares del neumococo. Algunas cepas presentan fimbrias y, además, se ha demostrado la producción de bacteriocinas (klebocinas).

Se conocen dos especies: *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, y la primera se divide en 3 subespecies: *K. pneumoniae* subespecie *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subespecie *ozaenae* y *K. pneumoniae* subespecie *rhinoscleromatis*, cuyos caracteres diferenciales se reflejan en la tabla 39-3.

K. pneumoniae subespecie *pneumoniae* y *K. oxytoca* son las más frecuentes y difundidas en la naturaleza (agua, vegetales, alimentos). Se encuentran en las vías respiratorias superiores del 5-10 % de personas normales y se aíslan del 20 % de esputos y también de las heces, por lo que su hallazgo no es significativo. Intervienen en procesos neumónicos, que, a diferencia de la neumonía neumocócica, se caracterizan por presentar una clara tendencia a la necrosis, con formación de abscesos y elevada mortalidad, especialmente en alcohólicos y enfermos hospitalazados.

Las subespecies *rhinoscleromatis* y *ozaenae* se encuentran en las vías respiratorias superiores con menos frecuencia. La primera está relacionado con el rinoscleroma, tumor granulomatoso, de crecimiento lento, que se inicia en la mucosa nasal, bucal, de la faringe y de la laringe, y progresa por contigüidad produciendo destrucciones y trastornos mecánicos; en las biopsias se observan las típicas células de Mikulicz, células mononucleares con numerosos bacilos gramnegativos capsulados. *K. pneumoniae* subespecie *ozaenae* se encuentra asociada con casos de ocena, rinitis atrófica con secreción mucopurulenta y un olor fétido muy penetrante, cuya etiología no se conoce; también se ha aislado de infecciones urinarias, otitis y procesos diversos.

Enterobacter

Está constituido por microorganismos móviles que producen ODC y no sintetizan ADNasas. Se conocen tres especies, *E. aerogenes*, *E. cloacae* y *E. agglomerans* (antigua *Erwinia herbicola*), pero sobre la base de los estudios del ADN se han incluido nuevas especies, *E. sakazakii*, especie pigmentada semejante a *E. cloacae*, *E. gergoviae*, semejante a *E. aerogenes* y otras menos importantes (*E. intermedium* y *E. amnigenus*).

En las personas sanas, la mayoría de especies se encuentran como comensales del tubo digestivo, pero en los enfermos hospitalizados pueden colonizar otras mucosas, de manera que su aislamiento aun en cultivo puro no permite diferenciar una colonización de la infección. Si embargo, pueden producir ocasionalmente infecciones oportunistas en el tracto urinario, vías respiratorias y heridas, e incluso bacteriemias y sepsis, que se han observado por la administración de soluciones glucosadas contaminadas (especialmente por *E. agglomerans*) en perfusión intravenosa.

Serratia

Son microorganismos, que fermentan lentamente la lactosa, producen ODC y ADNasas.

Tabla 39-3. Caracteres diferenciales de las especies del género Klebsiella

	Ureasa	I	M	V	C	ONPG
K. pneumoniae subsp. *pneumoniae*	+	–	–	+	+	+
K. oxytoca	+	+	–	+	+	+
K. pneumoniae subsp. *rhinoscleromatis*	–	–	+	+	–	–
K. pneumoniae subsp. *ozaenae*	d	–	+	–	d	+

d: Reacciones diversas.

Tabla 39-4. Diferenciación de las principales especies de los géneros Enterobacter, Serratia, Hafnia

	Pig.	ADNasa	LCD	ODC	Sorbitol	Arabinosa
E. cloacae	–	–	–	+	+	+
E. aerogenes	–	–	+	+	+	+
E. agglomerans	± (amarillo)	–	–	–	d	+
E. gergoviae	–	–	+	+	–	+
E. sakazakii	+ (amarillo)	(+)	–	+	–	+
E. intermedium	–	–	–	+	+	+
E. alvei		–	+	+	–	+
S. marcescens	+ (rojo)	+	+	+	+	–
S. liquefaciens		+	+	+	+	+
S. rubidaea		+	+	–	–	+

d: Reacciones diversas.

Comprenden tres especies, *S. marcescens, S. liquefaciens* y *S. rubidaea* y otras de adquisición más reciente *(S. ficaria, S. fonticola, S. odorifera* y *S. plymuthica).* Aunque se consideran como saprofitos del medio externo y se caracterizan por sus escasas exigencias nutritivas y elevada resistencia a los agentes ambientales, también se han aislado de infecciones en el hombre.

La más importante es *S. marcescens,* especie que recién aislada del medio ambiente produce un pigmento rojo característico, pero que en los últimos decenios ha producido frecuentes infecciones y brotes epidémicos en muchos hospitales.

Las cepas hospitalarias se suelen caracterizar porque en su mayoría han perdido su capacidad de producir pigmento y son resistentes a gran número de antibióticos, y no es infrecuente el aislamiento de cepas resistentes a la mayoría de antibióticos de uso clínico. Se encuentran en el medio ambiente, polvo y zonas húmedas, contaminando sobre todo las colecciones de agua, líquidos y soluciones, incluso de desinfectantes. De ahí que se puedan producir bacteriemias y sepsis en los enfermos sometidos a perfusión intravenosa, cateterismo urinario y respiración asistida. Producen bacteriocinas o marcesinas de interés en los estudios epidemiológicos.

Hafnia

Considerada como una especie del género *Enterobacter (E. hafniae),* los estudios sobre el ADN han permitido separarla y formar un género aparte, *Hafnia,* con una sola especie *H. alvei.* Es un bacilo gramnegativo móvil a 22 °C y a veces inmóvil a 37 °C, que no fermenta la lactosa rápidamente. Se aísla en ocasiones a partir de productos patológicos e interviene fundamentalmente en infecciones hospitalarias.

La sensibilidad a los antibióticos de estos géneros es muy variable. Se encuentran numerosas cepas resistentes y multirresistentes, proporción que por regla general aumenta al hacer el paso de *Klebsiella* a *Enterobacter* y sobre todo a *Serratia.*

El género *Klebsiella* presenta una resistencia natural elevada a las penicilinas, incluidas ampicilina y carbenicilina. Por el contrario, es sensible a las cefalosporinas, aunque en estos últimos años se ha observado un aumento progresivo de resistencia a cefalotina (20-70 %). Presenta una sensibilidad variable a los aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina y kanamicina), cloranfenicol, tetraciclinas, colistina y trimetoprim, y la amikacina es la más activa.

Enterobacter presenta una resistencia natural a las penicilinas y cefalotina, y semejante a los restantes antibióticos, pero *Serratia* presenta, además, resistencia a la mayoría de antibióticos. En este grupo se presentan la mayor proporción de cepas multirresistentes e incluso de cepas resistentes a la mayoría de antibióticos de uso clínico. Los antibióticos más activos son los aminósidos y cefalosporinas (cefamandol, cefoxitina, cefotaxima). Sólo la práctica del antibiograma determina los antibióticos de elección en cada caso.

Hafnia es resistente a algunas β-lactaminas y en general sensible a la carbenicilina, aminoglucósidos, cloranfenicol y tetraciclinas.

Citrobacter

Es una enterobacteria fermentadora lenta de la lactosa (ONPG+), que presenta un grupo de pruebas IMVIC intermedio semejante al de *E. coli,* con la peculiaridad de crecer en medios con citrato, lo que la asemeja a *Salmonella.* Produce un cultivo abundante y graso, de olor nauseabundo (tabla 39-5).

Tabla 39-5 Diferenciación de las especies de los géneros Salmonella y Citrobacter

	Salmonella sp.	*S. arizonae*	*Citrobacter diversus*	*Citrobacter freundii*	*Citrobacter amalonaticus*
SH_2	+	+	–	+	–
Indol	–	–	+	–	+
Malonato	–	+	+	–	–
LDC	+	+	–	–	–
CNK	–	–	–	+	+

LDC: Lisín-descarboxilasa.
CNK: Cianuro potásico.
d: Reacciones diversas.

En la actualidad se aceptan tres especies, *C. freundii* (indol-negativa y SH_2-positiva), *C. diversus* y *C. amalonaticus* (indol-positivas y SH_2-negativas)*.

Es una enterobacteria comensal que se encuentra en el tubo digestivo de los lactantes y en las vías respiratorias y tracto urinario de los enfermos hospitalizados. Se aísla rara vez de procesos patológicos, en especial de infecciones urinarias y respiratorias, meningitis y abscesos cerebrales en recién nacidos, bacteriemias y sobre todo infecciones oportunistas en los hospitales, y es difícil muchas veces establecer su significación patológica. En general es sensible a gran número de antibióticos, en especial al cloranfenicol, tetraciclinas cotrimoxazol, colistina y aminoglucósidos, y presenta proporciones variables de resistencia a las β-lactaminas (ampicilina, carbenicilina y cefalotina).

Proteus, Morganella y Providencia

Comprenden un grupo de enterobacterias, pleomorfas y no fermentadoras de la lactosa, caracterizadas por su movilidad y la producción de fermentos, que producen la desaminación de la fenilanina y del triptófano (fenilalanín y triptófano-desaminasas).

Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (aguas residuales, suelo, plantas y materia orgánica en descomposición), forman parte de la flora intestinal del hombre y de los animales, y pueden intervenir en infecciones humanas como patógenos oportunistas.

De las cuatro especies de *Proteus*, en la actualidad sólo se consideran dos, *P. mirabilis* y *P. vulgaris*. Los estudios sobre el ADN han permitido separar *Proteus morganii* en el nuevo género *Morganella (M. morganii)* e incluir *P. rettgeri* en el género *Providencia* (tabla 39-6).

P. mirabilis y *P. vulgaris* son especies muy móviles, que, cuando se siembran en la superficie de medios sólidos, invaden ésta en forma de ondas muy características (fig. 39-2) que dificultan el aislamiento de los patógenos que puedan encontrarse en el producto, fenómeno que no se produce en los medios inhibidores.

Desde el punto de vista metabólico (tabla 39-6), su carácter fundamental es la producción de SH_2, de ureasas que descomponen la urea con liberación de hidróxido amónico y de desaminasas que producen la transformación de la fenilalanina en ácido fenilpirúvico (fenilalanín-desaminasas) y del triptófano en ácido indolacético (triptófano-desaminasas).

En cuanto a su estructura antigénica, presentan antígenos somáticos (O) y flagelares (H), que han permitido su clasificación en grupos O y serotipos O:H. Se han aislado mutantes aflageladas, que han perdido la movilidad y la capacidad de invadir la superficie de los medios sólidos. Algunas de estas mutantes presentan antígenos somáticos, de naturaleza polisacárida, comunes con microorganismos del género *Rickettsia*. Son las cepas OX, de los cuales las OX19 y OX2 de *P. vulgaris* y la OXK de *P. mirabilis* presentan antígenos comunes con *R. prowazeckii*, *R. conorii* y *R. tsutsugamushi*, respectivamente, de manera que en el suero de los enfermos se encuentran anticuerpos que aglutinan estas cepas de *Proteus*. Es la reacción de Weil y Felix, que se utiliza en el diagnóstico serológico de estas rickettsiosis.

Atendiendo a la producción de indol, se pueden dividir en especies indol-negativas *(P. mirabilis)*, sensibles a la penicilina y a la mayoría de antibióticos, e indol-positivas *(P. vulgaris, M. morganii* y *Providencia)*, que son mucho más resistentes.

Aunque por lo general *Proteus, Morganella* y *Providencia* se comportan como saprofitos o comensales, en ocasiones pueden intervenir en procesos patógenos.

La acción patógena en el tracto urinario es la más importante y está asociada con la presencia de fimbrias *(P. mirabilis)*, que permiten su adherencia a las células del epitelio y de flagelos, que, por su motilidad, facilitan la producción de infecciones ascendentes y la colonización de la pelvis renal. Por otra parte, la producción de ureasa, al descomponer la urea y alcalinizar la orina tiene un doble efecto. Por un lado, inactiva C4 y altera las células del parénquima renal, facilitando la infección, y, por otro, precipita las sales de Ca y Mg, favoreciendo la producción de cálculos.

Mientras que *P. mirabilis* se ha observado en infecciones extrahospitalarias, las especies indol-positivas *(P. vulgaris, M. morganii* y *Providencia)* producen infecciones hospitalarias, especialmente en enfermos cateterizados. También pueden intervenir en otras infecciones extraintestinales, como abscesos, infecciones de las heridas, peritonitis, neumonías y bacteriemias, e incluso se ha sospechado su intervención en procesos intestinales, especialmente en gastroenteritis infantiles y toxiinfecciones alimentarias.

En cuanto a su sensibilidad a los antibióticos, todas las especies de *Proteus* presentan resistencia natural a la colistina y tetraciclinas. *P. mirabilis*, que es la especie que se aísla con mayor frecuencia, es también la más sensible a los antibióticos. Presenta cierta sensibilidad a las penicilinas, en especial a las de amplio espectro (ampicilina y carbenicilina) y sobre todo a los aminósidos que son los más activos. Los *Proteus* indol-positivos y *Providencia* se han hecho re-

*Hasta 1971 el género *Citrobacter* se consideraba constituido por una sola especie *C. freundii*; posteriormente, las cepas indol-positivas y SH_2-negativas se incluyeron en el nuevo género *Levinea*, con dos especies *L. malonatica* y *L. amalonatica*, según su capacidad de fermentación el malonato. En la actualidad, las cepas malonato-positivas se denominan *C. diversus* y las malonato-negativas, *C. amalonaticus*.

Tabla 39-6. Géneros Proteus, Morganella y Providencia. Caracteres diferenciales de las especies

	Fenilalanín-desaminasas	Ureasas	SH_2	Indol	Citrato	Adonitol
Proteus mirabilis	+	+	+	–	+	–
Proteus vulgaris	+	+	+	+	d	–
Morganella morganii	+	+	–	+	–	–
Providencia rettgeri	+	+	–	+	+	+
Providencia stuartii	+	d	–	+	+	–
Providencia alcalifaciens	+	–	–	+	+	+

d: Reacciones diversas.

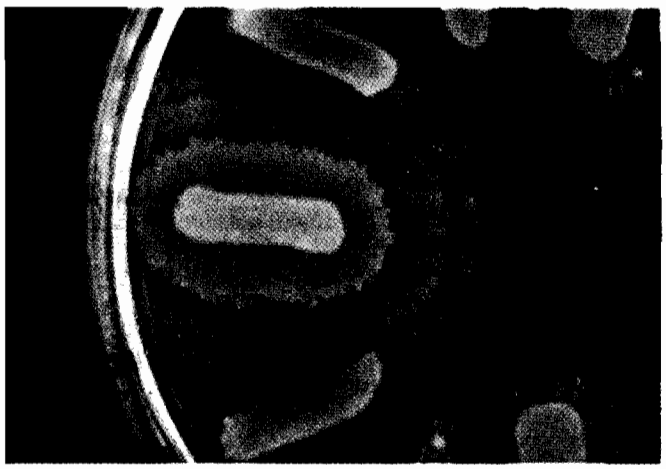


Fig. 39-2. *Proteus vulgaris.* Colonias en medio sólido que muestran su difusión y la aparición de sucesivas ondas de crecimiento *(swarming).*

sistentes a la mayoría de antibióticos y presentan porcentajes de resistencia variables a carbenicilina, aminoglucósidos (amikacina) y cotrimoxazol.

Edwarsiella

Es un género compuesto por enterobacterias, que presentan un gran número de propiedades comunes con el género *Salmonella*, del que se diferencian porque producen indol y fermentan un corto número de azúcares, y resulta característica la no fermentación del manitol.

Se han encontrado con cierta frecuencia en el intestino de reptiles (serpientes) y de algunos peces, sobre todo en las regiones tropicales y menos veces en los animales domésticos y salvajes. En el hombre no forman parte de la flora intestinal normal, pero se han aislado rara vez en personas sanas, en casos de diarrea e infecciones generalizadas (sepsis, meningitis), sin que se haya podido demostrar con certeza su acción patógena.

Otros géneros

Recientemente se han individualizado doce nuevos géneros, de los cuales el género *Obesumbacterium* sólo se encuentra como contaminante de las levaduras en las fábricas de cerveza y el género *Xenorhabdus* es un parásito de los nematodes.

Los demás géneros se han aislado ocasionalmente de productos patológicos de enfermos sin que conozca su significación clínica (v. cap. 36).

El género *Cedecea* se ha constituido con gérmenes aislados a partir de muestras clínicas en su mayoría del aparato respiratorio. Se caracteriza por producir lipasas y ser resistente a la colistina y cefalotina, al igual que *Serratia* del que se diferencia por no producir ADNasas ni hidrolizar la gelatina.

El género *Tatumella* también se ha aislado a partir de productos de los enfermos, sobre todo de esputos. Se caracteriza porque la mayoría de cepas son móviles a 25 °C por la presencia de flagelos polares o subpolares y producir grandes áreas de inhibición alrededor de un disco de 10 U de penicilina.

El género *Kluyvera* se encuentra generalmente en el suelo, aguas residuales y alimentos, y también se ha aislado de productos del enfermo. Se caracteriza por presentar escasos flagelos y acumular durante la fermentación de la glucosa grandes cantidades de ácido α-betaglutárico.

El género *Rahnella* se encuentra en las aguas. Presenta movilidad a 25 °C y se diferencia del género *Erwinia* por producir desaminasas, pero, por el contrario, no produce descarboxilasas ni desaminasas.

El género Ewingella se ha aislado de muestras clínicas, en especial de hemocultivos. Tiene una sola especie, *E. americana*, y se caracteriza por ser ONPG, citrato y VP-positivo, fermentar el manitol, salicina y trehalosa, y no producir gas, SH_2, descarboxilasas ni desaminasas.

El género *Buttiauxella* es semejante a *Citrobacter* y sólo se ha aislado de las aguas.

El género *Budvicia* está constituido por un grupo de enterobacterias aisladas de aguas, agasógenas, semejantes a *Proteus*, productoras de SH2, ureasa-positivas y poco sacarolíticas, aunque manosapositivas y FDA-negativas.

El género *Leminorella* se ha aislado de las heces del hombre sin que se haya podido relacionar con procesos patógenos.

El género *Koserella* es semejante a *Hafnia*, con la diferencia de ser VP-negativo y resistente al fago específico de *Hafnia*. Se ha aislado de heridas infectadas, artritis sépticas, vías respiratorias, agua y heces.

El género *Moellerella* se ha aislado de cuadros de diarrea sin que se haya podido demostrar su papel causal.

CUADROS CLINICOS

Las enterobacterias oportunistas producen por lo general infecciones fuera del tubo digestivo (infecciones extraintestinales), en huéspedes con las condiciones ecológicas y defensivas disminuidas, que se caracterizan por su inespecificidad de manera que pueden ser producidas por cualquier especie. Varían desde procesos localizados, generalmente leves, hasta infecciones generalizadas, que pueden revestir extrema gravedad. Las más frecuentes son las infecciones urinarias, seguidas de las respiratorias, las de las heridas, las abdominales, meningitis y sepsis.

Infecciones urinarias

Constituyen cerca del 40 % de las infecciones hospitalarias y están producidas en su mayoría (± 80 %) por bacilos gramnegativos; *E. coli, Klebsiella-Enterobacter* y *Proteus* son los más frecuentes.

Se presentan en personas con alteraciones anatómicas o afecciones obstructivas del tracto urinario (cálculos, adenoma prostático, malformaciones congénitas, lesiones neurológicas), que se han sometido a intervenciones quirúrgicas o cateterismos, o simplemente en enfermos encamados.

La infección urinaria en personas sin problemas obstructivos ni enfermedades de base se produce en la mayoría de los casos (85 %) por cepas de *E. coli* uropatógenos que se encuentran asociados con ciertos antígenos O (01, 02, 04, 06, 07,

016, 018 y 075) y antígenos K (K1, K2, K3, K5, K12 y K13) que presentan fimbrias P (MR) y muchas veces fimbrias de tipo 1 (MS).

La infección se produce en general por vía ascendente a partir de microorganismos del tubo digestivo, ya por su vecindad anatómica, como ocurre en el sexo femenino, o por contaminación con las manos del personal asistente en el curso del cateterismo o en la asistencia a enfermos cateterizados, cuando no se realiza en condiciones de asepsia.

Se produce la colonización del introito vaginal y área periuretral para pasar luego a la uretra y ascender a lo largo del tracto urinario. Las fimbrias de tipo 1 facilitan su fijación al moco urinario constituido en gran parte por la glicoproteína de Horsfall y Tamm, y las fimbrias P permiten su adherencia a los receptores específicos (globósidos) de las células epiteliales del tracto urinario, lo que constituye la fase previa a la invasión. Se ha demostrado una correlación entre la presencia de fimbrias P y la capacidad de adherencia al epitelio urinario con la gravedad de la infección, lo que indica que la capacidad de adherencia es un factor de virulencia y de selección para las cepas de la flora fecal capaces de colonizar el tracto urinario. Asimismo en los enfermos con infecciones recurrentes y personas de edad avanzada se ha demostrado la existencia de una predisposición a la infección urinaria, condicionada por un aumento de la capacidad adhesiva de las células urinarias, probablemente debido a una mayor densidad de receptores (globósidos). También la infección urinaria puede producirse por vía hematógena, a partir de focos gastrointestinales.

Pueden presentarse infecciones agudas del tipo de *pielonefritis*, caracterizadas por la aparición de escalofríos, fiebre elevada con grandes oscilaciones y dolor lumbar con polaquiuria, o también *cistitis* con polaquiuria, disuria y a veces dolor suprapúbico. El examen del sedimento urinario revela un aumento del número de leucocitos polinucleares (piuria), a veces con cilindruria, asociado con proteinuria y bacteriuria. Muchas veces, la infección se manifiesta sólo por la presencia de bacterias en la orina, *bacteriuria asintomática*, que es una de las formas más frecuentes de infección urinaria. Se observa en el 1 % de niños y adolescentes y en el 5-10 % de gestantes, lo que constituye un riesgo de infección clínica.

Infecciones respiratorias

Constituyen el 15-20 % de infecciones hospitalarias, de las cuales el 40-80 % son por bacilos gramnegativos, proporción que varía según el hospital que se considere y la duración del período de hospitalización. Se ha observado que en los enfermos hospitalizados por procesos crónicos es frecuente la colonización de las vías respiratorias superiores por bacilos gramnegativos, a partir del medio ambiente, climatizadores, respiradores y manos del personal asistente, lo que origina un mayor riesgo de infecciones respiratorias, especialmente de neumonías y bronconeumonías.

Son frecuentes en diabéticos, alcohólicos y pacientes con afecciones crónicas del aparato respiratorio, cardiovascular o renal, sobre todo si son sometidos a terapéutica inmunodepresora. Intervienen con mayor frecuencia *Klebsiella-Enterobacter*, seguido de *E. coli* y *Proteus*.

Se presentan cuadros de neumonía y bronconeumonía, con afectación de varios lóbulos pulmonares que, a diferencia de la neumocócica, tienen tendencia a la producción de abscesos, expectoración mucopurulenta y a veces hemática, con mortalidad más elevada. Después de la curación no se produce una *restitutio ad integrum*.

Infecciones abdominales

Pueden producirse abscesos y peritonitis como consecuencia de perforación intestinal (apendicitis, diverticulitis, colecistitis), de intervenciones quirúrgicas en el tubo digestivo y a veces sin causa conocida en enfermos crónicos, como ocurre en los cirróticos con ascitis. Son infecciones mixtas por microorganismos comensales de la flora intestinal, en las que intervienen por lo general enterobacterias asociadas con anaerobios.

Bacteriemias y sepsis

En los últimos decenios ha aumentado el número de bacteriemias y sepsis por bacilos gramnegativos en los hospitales, sobre todo en niños y adultos afectos de enfermedades crónicas o debilitantes, sometidos a perfusión intravenosa o terapéutica inmunodepresora.

Las sepsis tienen por lo general un origen endógeno, a partir de un foco genitourinario, gastrointestinal o pulmonar, y otras veces exógeno en enfermos muy debilitados sometidos a perfusión intravenosa, o incluso a partir de quemaduras e infecciones de la piel.

En los casos típicos se caracterizan por la aparición de escalofríos con fiebre elevada y postración, acompañados a veces de manifestaciones digestivas (náuseas, vómitos) o respiratorias (taquipnea). En la mayoría de casos se presenta a las pocas horas un cuadro de hipotensión, que puede conducir rápidamente al shock séptico y menos veces a la coagulación intravascular diseminada, con la aparición de petequias y hemorragias diversas.

El cuadro clínico se considera relacionado con la liberación de endotoxina, y se observa en estos casos leucopenia y trombopenia, seguidas de leucocitosis. La mortalidad es bastante elevada y está en relación directa con la naturaleza y gravedad de la enfermedad de base que presenta el enfermo.

Meningitis

Se presentan por lo general a consecuencia de bacteriemias en niños y adultos debilitados o con afecciones crónicas, sobre todo después de traumatismos, exploraciones instrumentales o intervenciones quirúrgicas, especialmente del sistema nervioso.

Constituyen un caso especial las *sepsis y meningitis neonatales*, que se observan en los prematuros y recién nacidos durante el primer mes de vida y en su mayoría (80 %) están producidas por *E. coli* o *Streptococcus* del grupo B.

La infección se transmite a partir de la madre durante el parto o por el personal asistente en los primeros días o semanas después del nacimiento. Se ha observado que el 75 % de *E. coli* aislados presentan el antígeno K1 (ácido siálico), relacionado antigénicamente con el antígeno capsular de los meningococos del serogrupo B.

Se considera que dichos microorganismos ingresan por vía digestiva, colonizan el conducto intestinal y producen una fase de bacteriemia con localización en las meninges, cuadros que se presentan fundamentalmente en los niños sometidos a lactancia artificial, pues en el calostro y leche materna existen anticuerpos locales que evitarían la colonización y la infección.

Se produce un cuadro meníngeo, con una sintomatología más o menos típica consistente en fiebre, cefalalgias, rigidez de nuca, y se obtiene por punción lumbar un líquido turbio, con cifra de células elevada y predominio de polinucleares, aumento de los valores de proteínas y disminución de la glucosa.

Infecciones de las heridas

Son bastante frecuentes, especialmente de la herida quirúrgica después de intervenciones en enfermos hospitalizados. Pueden producirse en el curso de la intervención o en el postoperatorio, a partir de una fuente endógena (contacto con mucosas contaminadas, bacteriemia) o exógena, transmitida a partir de la flora hospitalaria por las manos del personal asistente, instrumental, equipo contaminado y menos veces el aire.

Se ha señalado que la contaminación de origen endógeno es más importante en las intervenciones en órganos o aparatos normalmente contaminados, como el aparato digestivo, respiratorio o genitourinario, donde la frecuencia de estas infecciones es más elevado. En su mayoría son producidas por *E. coli* (en proporción semejante a *S. aureus*), seguidas por *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus*, como más importantes. El mejoramiento de la técnica quirúrgica y el empleo del método aséptico por el personal asistente reducen sensiblemente su frecuencia.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Se efectúa siguiendo la marcha general ya señalada para el aislamiento e identificación de enterobacterias (cap. 37). Sin embargo, teniendo en cuenta que se trata de microorganismos que pueden formar parte de la flora normal del tubo digestivo y aun colonizar la piel y otras mucosas, para poder deducir su posible papel causal en el proceso, es fundamental la *obtención de una buena muestra* en condiciones asépticas, que sea representativa de la zona patológica, y evitar al máximo la contaminación por la flora comensal.

Zonas estériles. Cuando las muestras proceden de zonas estériles del organismo y se obtienen por punción (sangre, exudados, LCR), por lo general no existen mayores problemas. En las bacteriemias y sepsis se practica un hemocultivo; en las infecciones abdominales y exudados se aconseja obtener el producto por aspiración con jeringa, obturando la aguja con tapón de goma, para mantener la viabilidad de los anaerobios que pueda contener la muestra. Se debe efectuar un examen directo para tener una orientación sobre la composición de la flora.

Zonas contaminadas. Cuando la muestra procede de una zona contaminada, como ocurre con la orina y esputos por su paso obligado por la mucosa de la uretra anterior, y vías respiratorias superiores, se deben extremar las precauciones y aun emplear métodos de bacteriología cuantitativa para la interpretación de los resultados.

Infecciones urinarias

Se emplea la técnica del urinocultivo. Consiste en obtener asépticamente una muestra de orina (chorro medio), siempre que hayan transcurrido como mínimo 4 horas desde la micción anterior, sembrar un volumen determinado de orina (0,001 ml obtenidos con asa calibrada) en un medio adecuado y por recuento de las colonias desarrolladas determinar el número de bacterias por mililitro. La interpretación de los resultados se basa en que, al ser la orina normalmente estéril, puede contener un pequeño número de bacterias (10^2/ml) por arrastre de la uretra anterior contaminada; por el contrario, en los casos de infección urinaria se produce la multiplicación de las bacterias en la orina vesical, de manera que a las 4-6 horas su número oscila de 10^5-10^9/ml. Cuando la cifra de colonias es igual o superior a 100.000/ml es indicativa de infección urinaria (bacteriuria significativa de Kass); un valor por debajo de 10.000/ml se considera debido a contaminación por la flora uretral, y una cifra comprendida entre 10.000 y 100.000/ml tiene una significación dudosa y debe repetirse la prueba. El examen directo del sedimento urinario puede orientar sobre el número de bacterias y la localización de la infección.

En los niños se puede obtener la muestra con bolsa de plástico o por punción suprapúbica, que, al evitar la contaminación uretral, hace innecesaria la técnica del urinocultivo.

El diagnóstico de infección del tracto urinario superior se puede establecer por la presencia de piuria y sobre todo de cilindruria, cateterismo ureteral o la demostración de un aumento del título de anticuerpos séricos frente a una suspensión calentada de la bacteria aislada por aglutinación o hemaglutinación, absorbiendo en la superficie de hematíes el antígeno polisacárido que queda en el sobrenadante de la suspensión calentada; también por inmunofluorescencia con un suero anti-IgG marcado.

Infecciones respiratorias

El diagnóstico es más difícil, pero se puede realizar por examen y cultivo de esputos, siempre que se obtenga una muestra válida. El esputo debe ser reciente, de origen pulmonar y obtenido después de esfuerzos de tos ayudados por drenaje postural o la técnica del *clapping*, pues la presencia de saliva, por la flora comensal que contiene, puede falsear los resultados. Se puede mejorar seleccionando las partes purulentas o practicando una homogeneización. En estos casos, el papel del microorganismo aislado se deducirá de su predominio en una muestra válida y de la ausencia de cualquier otro patógeno. La repetición del aislamiento en una nueva muestra confirmará los resultados. El examen directo de un esputo reciente y bien obtenido puede orientar el diagnóstico, pero, en la mayoría de casos, las condiciones de obtención no son adecuadas y los resultados no son fiables.

En algunos casos puede evitarse la flora de las vías altas por aspiración (broncoaspirados) o mejor punción transtra-

queal e incluso pulmonar. El examen de esputos debe ir acompañado de un hemocultivo y, cuando existe derrame pleural, del cultivo de líquido pleural, que en caso de positividad permite aclarar el diagnóstico. También puede determinarse la presencia de antígenos en el esputo y líquido pleural por contrainmunoelectroforesis.

TRATAMIENTO

Se debe tener en cuenta que:

1. La sensibilidad a los antibióticos de las enterobacterias oportunistas es muy variable, y se presentan con frecuencia cepas multirresistentes, lo que obliga a la práctica de un antibiograma.
2. Es fundamental conocer la causa del oportunismo. Se deben determinar las condiciones de base que actúan como factores predisponentes (enfermedades subyacentes, tratamientos inmunodepresores, catéteres, focos de infección) y son responsables de la gravedad, para proceder a su tratamiento o corrección.

Para el tratamiento debe seleccionarse los antibióticos más eficaces de acción bactericida y, en los casos de sepsis, se asocian dos antibióticos bactericidas que presenten una acción sinérgica.

En los enfermos comprometidos es importante practicar exámenes bacteriológicos de seguimiento, para conocer con rapidez las posibles variaciones en la sensibilidad o los cambios en la etiología de la infección oportunista que permitan adecuar el tratamiento.

BIBLIOGRAFIA

Barr, J. G.: *Klebsiella:* Taxonomy, nomenclature and communication. J. Clin. Pathol., 30, 943, 1977.

Braunstein, H., y Tomasulo, M.: Identification of *Proteus morganii* and distinction from other *Proteus* species. Am. J. Clin. Pathol., 905, diciembre, 1978.

Hodges, G. R.; Degener, Ch. E., y Barnes, W. G.: Clinical significance of *Citrobacter Isolates.* Am. J. Clin. Pathol., 37, julio, 1978.

McGowan, J. E., y Finland, M.: Infection and antibiotic usage at Boston City Hospital: Changes in Prevalence during the Decade 1964-1973. J. Infect. Dis., 129, 421, 1974.

Pumarola, A.; Beltrán, M.; Prats, G., y Jiménez De Anta, M. T.: Sobre algunas enterobacterias atípicas, Med. Clin., 64, 466, 1975.

Pumarola, A.; Jiménez De Anta, M. T.; Richard, C.; Carbonell, M., y Carbonell, X.: *Klebsiella oxytoca:* Estudio epidemiológico. Med. Clin., 70, 53, 1978.

Urbaschek, B.; Urbaschek, R., y Neter, E. (dirs.): Gram-negative Bacterial Infections. Springer, Wien, 1973.

Capítulo 40

Yersinia

José Angel García-Rodríguez

El género *Yersinia* comprende varias especies patógenas para el hombre y los animales. Se definen como bacilos o cocobacilos gramnegativos, rectos, de 0,5-0,8 µm de diámetro y 1-3 µm de longitud. Son acapsulados, pero *Y. pestis* presenta una cubierta tanto en los productos patológicos como cuando crece a 37 °C. Tradicionalmente se describían tres especies: *Y. pestis*, agente etiológico de la peste, *Y. enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis*, responsables ambas de procesos gastrointestinales y afecciones de los ganglios mesentéricos (tabla 40-1).

Recientemente, el género ha sido revisado y se aceptan otras especies: *Y. intermedia*, *Y. fredericksenii*, *Y. kristenseníi* e *Y. ruckeri*, aisladas del agua, alimentos, peces y ocasionalmente personas sanas o enfermas.

Son bacterias inmóviles a 37 °C, pero móviles, merced a flagelos peritricos, cuando crecen a temperaturas inferiores a 30 °C. *Y. pestis* es siempre inmóvil. La temperatura óptima de desarrollo es de 28-29 °C. Son oxidasa y catalasa-positivos y desdoblan la urea, a excepción de *Y. pestis* y *Y. ruckeri*.

Tabla 40-1. Características del género Yersinia

Características	*Y. pestis*	*Y. pseudo-tuberculosis*	*Y. enterocolitica* y especies relacionadas
Movilidad a 25 °C	–	+	+
Movilidad a 37 °C	–	–	–
Oxidasa	–	–	–
Ureasa	–	+	+
Indol	–	–	V
Voges-Proskauer a 25 °C	–	–	+
Voges-Proskauer a 37 °C	–	–	–
Reducción de nitratos	V	+	+
Fermentación			
Glucosa	+	+	+
Lactosa	–	–	–
Sacarosa	–	–	+
Patogenicidad en animales	++	++	+

+: La mayor parte de las cepas positivas.
–: La mayor parte de las cepas negativas.
V: Variable.

Yersinia pestis

Descrita simultáneamente por Yersin y Kitasato en 1894, es un bacilo o cocobacilo gramnegativo, de 0,5-0,8 × 1,5-2 µm, inmóvil, no esporulado y a veces capsulado.

Es el agente productor de la peste, zoonosis de roedores transmisible al hombre. Se trata de una enfermedad aguda, febril, de elevada mortalidad y caracterizada por inflamación de los ganglios linfáticos y hemorragias petequiales y difusas en la piel, tejido celular subcutáneo y vísceras, con formación frecuente de bubones y a veces estados septicémicos o neumónicos.

ACCION PATOGENA

Se consideran dos aspectos: la patogenia y las manifestaciones clínicas.

Patogenia

Determinantes de virulencia

Se conocen varios factores de virulencia, que son los que condicionan la capacidad de esta bacteria para producir enfermedad: toxina murina, endotoxina, antígenos V y W, antígeno de cubierta (fracción antigénica 1 ó F1), pesticinas I y II, producción de coagulasa, formación de fibrinolisina y capacidad de absorber ciertos pigmentos y de sintetizar purinas.

Toxina murina. Se trata de una toxina proteica, termolábil y dializable, que puede convertirse en anatoxina, a pesar de encontrarse ligada a la membrana bacteriana o sólo liberarse cuando se destruye la bacteria.

Consta de dos fracciones. La fracción A tiene doble peso molecular (240.000) que la B (120.000). Ambas presentan en común la riqueza en aminoácidos hidrófobos, lo que explica su localización y acción en la membrana citoplásmica.

Aunque su mecanismo de acción no está totalmente esclarecido, se sabe que actúa en el miocardio y las células hepáticas. En cultivos celulares bloquea el consumo de oxígeno por parte de las células, sin que se sepa de manera absoluta si este bloqueo es consecuencia de la fijación de la toxina sobre la membrana celular, impidiendo el paso de oxígeno, o de una acción directa sobre las mitocondrias. Se ha comprobado que, en cultivos celulares, la toxina produce engrosamiento e hipertrofia de las mitocondrias (para suplir una acción que no llevan correctamente a cabo en condiciones normales), similares a los que se observan en hepatocitos y células cardiacas, en la autopsia de animales de experimentación inoculados con este microorganismo. Otros investigadores señalan la posibilidad de que el bloqueo en las mitocondrias impediría la fijación en ellas de los iones calcio y fosfato.

Endotoxina. El papel de la endotoxina en la patogenia de la enfermedad no está bien definido. Experimentalmente se ha comprobado que origina una reacción febril bifásica, así como reacciones de Schwartzman de tipo local y general.

Antígenos V y W. El antígeno V (proteico) y W (lipoproteico) condicionan la resistencia a la fagocitosis por los polimorfonucleares. Están codificados por un plásmido de 45 megadaltons. Son elaborados a 37 °C, pero no a temperaturas inferiores, durante la fase estacionaria de crecimiento bacteriano y son responsables del establecimiento de la infección, junto con la capacidad que tiene *Y. pestis* para sobrevivir en el interior de los monocitos. Esquemáticamente se puede concluir que, en la pulga y en la rata, los microorganismos no sintetizan los antígenos V, W y F-1, dado que la temperatura de este animal es de 28 °C. Cuando las bacterias se inoculan a un huésped por la pulga de la rata, son fagocitadas por monocitos y neutrófilos. Los neutrófilos las fagocitan y destruyen, al contrario de lo que sucede en los monocitos, donde sobreviven y se multiplican. Como la temperatura del organismo humano es de 36-37 °C, el bacilo pestoso sintetiza los antígenos F-1, V y W, circunstancia que imposibilita a los neutrófilos la fagocitosis posterior.

Antígeno de cubierta (fracción 1). Es un antígeno soluble, formado por dos complejos inmunológicamente idénticos: fracción 1A, que contiene N-acetil-glucosamina y ácido hexaurónico, y fracción 1B, de naturaleza proteica. La máxima producción de F-1 ocurre a 37 °C y, al igual que los antígenos V y W, no se produce, o lo hace en escasa cantidad, a temperaturas más bajas. Es esencial para la virulencia en el cobayo, altamente inmunógeno, y protege frente a la fagocitosis.

Pesticinas I y II. Son dos bacteriocinas que inhiben el crecimiento de *Y. pseudotuberculosis* y de algunas cepas de *Y. enterocolitica* y *E. coli*. Su significado no se conoce, pero se sabe que las cepas bacteriocinógenas son las más virulentas.

Coagulasa y fibrinolisina. Son fermentos producidos únicamente por cepas bacteriocinógenas. Su papel patógeno está condicionado por el hecho de que las cepas no productoras de coagulasa o fibrinolisina son menos virulentas para los animales de experimentación.

Absorción de pigmentos. Se ha comprobado que las cepas que tienen más capacidad para absorber pigmentos en su superficie son las más virulentas, y hay, por tanto, una interesante relación entre pigmentación y virulencia. Existe un componente superficial, no identificado, que absorbe hemina y colorantes básicos aromáticos, lo que explica que las colonias se pigmenten. Hechos similares se observan en *P. multocida* y *Y. pseudotuberculosis*, y los datos experimentales apuntan la posibilidad de que este componente superficial sea captador de hierro.

Síntesis de purinas. La capacidad de sintetizar purinas es un determinante de la virulencia, y se observa, igual que en otras enterobacterias, una disminución de la virulencia cuando las cepas de *Y. pestis* pierden la capacidad de sintetizar purinas de manera total o parcial.

En resumen, la capacidad de sobrevivir en los monocitos y la existencia de antígenos V, W y posiblemente de F-1 representan un obstáculo para la fagocitosis y son los responsables del establecimiento de la infección. El desarrollo de ésta se debería a la liberación de toxina murina y endotoxina, y producción de coagulasa y fibrinolisina. La capacidad de absorber pigmento, producir bacteriocinas y sintetizar purinas son factores de virulencia, cuya significación y alcance no están establecidos, aunque se sabe que las cepas que tienen estas tres propiedades son más virulentas.

Patogénesis

El bacilo pestoso aparece vehiculado, la mayor parte de las veces, por la pulga de la rata. Desde la puerta de entrada alcanza rápidamente los ganglios linfáticos regionales, en los que se multiplica de forma activa, produciendo lesiones en ellos. Debido a esta multiplicación masiva y por rebosamiento, escapan a la circulación general y alcanzan múltiples y variados órganos, en especial ganglios linfáticos, hígado, bazo, pulmones, piel y mucosas, donde originan lesiones piógenas con carácter inflamatorio, hemorrágico, necrótico o edematoso. Puede aparecer un colapso circulatorio, con diátesis hemorrágica, coagulación intravascular diseminada (CID) y fenómenos trombóticos periféricos parecidos a la reacción de Schwartzman. Aparece, además, una toxemia progresiva que conduce a la muerte.

Los bacilos inoculados por la pulga que escapan de la fagocitosis originan peste bubónica. En ocasiones pasan a la sangre (peste septicémica), incluso sin afección aparente de los linfáticos regionales (peste septicémica primaria), y alcanzan los múltiples órganos ya señalados, entre ellos el pulmón (peste neumónica secundaria). Resulta menos frecuente la peste neumónica primaria por la llegada del germen por vía aérea al árbol respiratorio, lo que conduce a un cuadro fulminante de extraordinaria gravedad, al ser el pulmón un órgano vital que se coloniza por bacterias extraordinariamente resistentes a la fagocitosis.

Manifestaciones clínicas

Existen varias formas clínicas de peste. Las tres más importantes son la peste bubónica, peste pulmonar y peste

septicémica. La individualización de esta última resulta a veces difícil, porque la septicemia constituye el estadio final de las otras formas y las manifestaciones primarias corresponden a veces a una forma bubónica con bubón inaparente.

Peste bubónica

Es la más frecuente y la expresión de la penetración del germen a través de la piel, vehiculado por la picadura de la pulga de la rata.

Período de incubación. Es silencioso y tiene una duración por término medio de 2 a 6 días, a pesar de que se han señalado excepcionalmente períodos de incubación de horas y de 8-10 días.

Período de invasión. La mayor parte de las veces se presenta bruscamente, con fiebre de 39-40 °C, escalofríos y vómitos, que en pocas horas dan paso al período de estado.

Período de estado. *Bubón.* Se hace evidente al segundo o tercer día de comienzo de la enfermedad. Su aparición va precedida de dolor o sensación de tensión. La localización está relacionada con el lugar de picadura y su frecuencia presenta este orden: inguinal, axilar cervical y submaxilar. Normalmente es único. Móvil al principio, se adhiere rápidamente a los tejidos vecinos, los cuales aparecen inflamados. La piel que le recubre está caliente y la palpación, que siempre es dolorosa, permite reconocer una masa ganglionar, en que se aprecian una serie de ganglios aislados o bien formando una masa única. Acaba por abrirse al exterior, con emisión de pus rico en bacilos.

Síndrome infeccioso. La fiebre es alta y generalmente continua, aunque puede experimentar pequeñas remisiones. La lengua es saburral y en los casos graves toma una coloración grisácea. Existen trastornos digestivos, de tipo diarreico, y continúa con vómitos.

Síndrome tóxico. Aparecen trastornos neurológicos y sensoriales: unas veces en forma de delirio y agitación, y otras, por el contrario, con estado estuporoso, tifódico. Es muy frecuente la incoordinación motora, con la típica marcha de borracho.

Sin tratamiento evoluciona rápidamente hacia la muerte, con agravación de los signos infecciosos y tóxicos y aparición de manifestaciones cardiovasculares.

Peste pulmonar

Secundaria. Es una complicación de la peste bubónica, que aparece en alrededor del 5 % de los casos. Se manifiesta como neumonía masiva con múltiples focos bronconeumónicos. Altamente epidémica, es casi siempre mortal.

Primaria. Tiene un período de incubación de 2-3 días, y el período de inicio es incluso más violento y brusco que en la peste bubónica, ya que la fiebre alcanza rápidamente 40-41 °C. En el período de estado, además de los signos infecciosos y tóxicos ya señalados, hacen su aparición signos que traducen una afectación pulmonar grave: respiración entrecortada y superficial, constricción torácica y expectoración inicialmente mucosa, después mucopurulenta y finalmente de color rosa o rojo vivo. Los signos físicos son escasos, lo que contrasta con la intensidad de los signos generales. Sin tratamiento evoluciona en 2-4 días hacia la muerte, con aparición de síncope, edema pulmonar o fallo cardiaco.

Peste septicémica

Es el estadio final de cualquier tipo de peste. Ya se ha señalado que la peste septicémica primaria aislada es discutida.

Otras formas clínicas

Existen otras formas clínicas más raras y que se pueden clasificar en:

Forma gastrointestinal. La existencia de esta forma primaria de peste, con auténticos bubones en los ganglios mesentéricos, no es admitida por todos, debido a que en la peste bubónica existen manifestaciones gastrointestinales.

Peste ambulatoria. Se caracteriza por la aparición de una vesícula en el punto de inoculación, con linfangitis local, sin bubón ni signos generales.

Peste «minor». Se manifiesta con una discreta adenopatía, con poca fiebre y escasa afectación general.

Peste «siderans». Correspondería a las formas septicémicas primarias. Tiene un comienzo brusco con signos de infección generalizada, que conducen a un coma en pocas horas.

Formas hemorrágicas. Pueden citarse las oculares, amigdalares, etc.

Las complicaciones más frecuentes de la peste bubónica y septicémica, además de la mencionada peste pulmonar secundaria, son la coagulación intravascular diseminada (CID) y la meningitis. El 80 % de los pacientes presentan signos subclínicos de CID y a veces, aunque rara vez, aparecen procesos gangrenosos (gangrena seca) en la parte distal de las extremidades. La afectación meníngea aparece fundamentalmente en los casos en que se tardó en instaurar un tratamiento antibiótico. El LCR presenta abundantes polinucleares, cocobacilos gramnegativos, hipoglucorraquia y aumento de las proteínas.

DIAGNOSTICO

Ha de ser precoz, para poder instaurar rápidamente el tratamiento. En época de epidemia, los datos clínicos se consideran suficientes, pero en períodos no epidémicos es necesario realizar un diagnóstico microbiológico directo. El diagnóstico indirecto, la mayor parte de las veces, sólo sirve para estudios retrospectivos.

Directo

Son muestras válidas para la búsqueda de *Y. pestis* el aspirado purulento del bubón, sangre, esputo, LCR, nódulos linfáticos y tejido pulmonar.

Examen microscópico directo

En los productos patológicos mediante tinciones de Gram aparecen cocobacilos gramnegativos con coloración bipolar. Otras tinciones que proporcionan buenos resultados son las de Giemsa y Wayson (carbol-fuchina y azul de metileno). Los productos patológicos aparecen capsulados, por lo que puede recurrirse a técnicas que demuestren la presencia de cápsula o bien a la fluorescencia directa, que proporciona unos resultados altamente satisfactorios.

Aislamiento e identificación

Es un germen anaerobio facultativo, que crece a temperaturas comprendidas entre 0-43 °C, y la temperatura óptima es de 28 °C. A esta temperatura, las colonias aparecen a los 2-3 días de incubación. A 37 °C, el desarrollo es más lento, aunque con la particularidad de que lo hace en forma capsulada, dato importante para la preparación de vacunas. El desarrollo se produce en medios sólidos: agar nutritivo, agar-desoxicolato y agar-MacConkey. Resiste a la acción de la bilis y desoxicolato sódico, los cuales se emplean para preparar medios selectivos y facilitar la recuperación, cuando se trata de productos contaminados con otra flora (p. ej., el esputo).

Las colonias son pequeñas, no hemolíticas, redondas, transparentes y de bordes lisos. En los cultivos, su morfología recuerda la de las enterobacterias, debido a que presenta un ligero polimorfismo.

La identificación se lleva a cabo visualizando sus características morfológicas y tintoriales, propiedades bioquímicas y sensibilidad a fagos, y por pruebas serológicas directas basadas en la búsqueda de la fracción antigénica 1 (F-1) en el microorganismo aislado: fijación del complemento, inmunofluorescencia y reacción de precipitación.

Clásicamente se distinguen tres biotipos al observar el diferente comportamiento en cuanto a la capacidad de reducir los nitratos y fermentar el glicerol:

1. Biotipo *orientalis*. Reduce los nitratos y no fermenta el glicerol.
2. Biotipo *medioevalis*. No reduce los nitratos y fermenta el glicerol.
3. Biotipo *antigua*. Reduce los nitratos y fermenta el glicerol.

Y. pestis y su antígeno F-1 también pueden encontrarse en sangre; la primera por hemocultivo y el segundo por las reacciones serológicas antes mencionadas.

Indirecto

Por difusión en gel y estudios bioquímicos se han detectado al menos 20 antígenos, la mayor parte de los cuales han recibido una designación alfabética. Quince de ellos son comunes con *Y. pseudotuberculosis*. La fracción antigénica 1 y el antígeno D sólo se encuentran en *Y. pestis*.

Dada la gravedad del cuadro, la importancia del diagnóstico indirecto es limitada. Se basa en la investigación de anticuerpos frente al antígeno F-1. Los anticuerpos aparecen a los 5-7 días y alcanzan su título máximo a los 12-14 días. Aunque se ha empleado la reacción de aglutinación, las dos pruebas que mejores resultados proporcionan son la hemaglutinación y la fijación del complemento.

TRATAMIENTO

Son necesarios la hospitalización y aislamiento estricto en todos los pacientes diagnosticados de peste. Si no hay manifestaciones pulmonares o lesiones cutáneas abiertas, el aislamiento estricto puede suprimirse a las 48-72 horas de iniciarse el tratamiento antimicrobiano. Las medidas son de dos tipos: generales y administración de antimicrobianos.

Medidas generales

Comprenden el tratamiento sintomático y de las complicaciones, tales como fiebre, shock, convulsiones y CID: aporte líquido intravenoso, corticoides, heparina, diazepán, etcétera.

Antimicrobianos

El antimicrobiano más efectivo es la estreptomicina y son fármacos alternativos la tetraciclina, cloranfenicol y sulfamidas (sulfadiazina). Kanamicina y trimetoprim-sulfametoxazol también parecen eficaces. La penicilina no es efectiva, aunque pueda tener actividad *in vitro*. La duración del tratamiento ha de ser de 10-12 días.

Como la estreptomicina es rápidamente letal para el bacilo de la peste, debe tenerse en cuenta la posibilidad de liberación masiva de endotoxina. Para los pacientes con meningitis, el antibiótico de elección es el cloranfenicol, y los niños nacidos de mujeres con un cuadro de peste durante la potencial fase bacteriémica deben ser tratados con kanamicina o estreptomicina.

EPIDEMIOLOGIA

Reservorio

Animal

Está constituido por múltiples roedores:

1. *Domésticos y peridomésticos:* rata negra o de los tejados, rata gris o de alcantarilla, rata noruega, etc.
2. *Salvaje:* Son muy variados: ardillas en Estados Unidos, espermófilos en Rusia, cavias en Sudamérica, meriones en Kurdistán, musarañas en Senegal, tarbaganes, etc. Serían, junto con el reservorio telúrico, los mantenedores de la peste.

Telúrico

Esta bacteria se mantiene viva y virulenta en el suelo e incluso puede multiplicarse. Es el reservorio de mantenimiento más importante.

Existen por tanto dos posibilidades para la supervivencia del germen:

1. Por el ciclo clásico, vertebrados-pulga-vertebrados, que es frágil e inestable.
2. Por conservación en el suelo, donde su mantenimiento es teóricamente ilimitado.

En las áreas geográficas de peste permanente, estas dos modalidades se suceden una a la otra y aseguran el mantenimiento de ambos reservorios. Los roedores muertos, tras una epizootia, contaminan el suelo y esta «reserva» telúrica mantiene el ciclo roedor-pulga-roedor.

Recientemente se ha comprobado en Vietnam la existencia de portadores humanos en orofaringe, pero sin haberse demostrado aún que constituyan fuente de infección.

Mecanismo de transmisión

El principal mecanismo de transmisión desde los roedores al hombre es la pulga de la rata *(Xenopsylla cheopis)*. La pulga, al alimentarse de sangre de un roedor u hombre enfermo, ingiere el bacilo. Como consecuencia de la multiplicación de *Y. pestis* en el proventrículo, se forma una masa obstructiva que impide el paso del alimento al intestino medio. Cuando pica de nuevo, encuentra el proventrículo lleno y regurgita el contenido sobre la herida de la picadura. Otros artrópodos vectores menos frecuentes son *X. brasiliensis* y *C. fasciatus*.

El contagio interhumano es posible cuando actúan como vectores la pulga del hombre *(Pulex irritans)* o el piojo *(Pediculus humanus)*. Se ha señalado la posibilidad de un contagio directo cuando se manipulan y desuellan roedores infectados, al poder penetrar la bacteria a través de erosiones de la piel o por mucosas (conjuntival, bucal, faríngea).

En la peste pulmonar, el principal mecanismo de transmisión es el contacto interhumano debido a las secreciones naso-buco-faríngeas que se emiten al hablar, toser y estornudar, etc.

Factores epidemiológicos secundarios

Nivel higiénico de la población

Las guerras y grandes catástrofes, así como la promiscuidad, comportan un descenso del nivel higiénico sanitario del medio y de la población, lo que ocasiona a su vez un incremento en la población de roedores.

Profesión

La enfermedad incide con más frecuencia en aquellas personas que por su trabajo están más en contacto con roedores: trabajadores de alcantarillas, graneros, etc.

Temperatura

Las temperaturas bajas favorecen la difusión de las formas pulmonares.

PROFILAXIS

Además de las medidas de desratización y desinsectación, y de la hospitalización, aislamiento y tratamiento adecuado de los pestosos, las medidas profilácticas se basan fundamentalmente en la quimioprofilaxis y la vacunación.

Quimioprofilaxis

Todos los contactos de personas con peste, sobre todo con formas pulmonares, recibirán, mientras exista riesgo de infección, tetraciclina o trisulfapirimidinas. Otros fármacos efectivos son la sulfadiazina y el cloranfenicol. No deben emplearse las sulfamidas de excreción rápida.

Los contactos de peste pulmonar serán vigilados diariamente, y si desarrollan una enfermedad febril, serán hospitalizados y tratados con estreptomicina en tanto se realiza el diagnóstico.

Vacunación

Las vacunas se preparan con cepas cultivadas a 37 °C. Inicialmente se emplearon las vacunas muertas: vacuna de Haffkine (por el calor y el ácido fénico) y la del Instituto Pasteur (por el calor). Posteriormente se emplearon las vacunas vivas atenuadas: vacuna EV de Girard y Robic, vacuna Tjiwidej de Otten, vacuna de Grasset y vacuna AMP (administración en forma de aerosoles). Existen también vacunas con fracciones antigénicas (F1).

Se recomienda el empleo de vacunas muertas por el formol, administradas por vía intramuscular, en tres dosis, separadas por un mes de intervalo, y una dosis de recuerdo a los 6 meses de la tercera administración.

Ultimamente se han realizado algunos ensayos con vacunas atenuadas por vía oral, con resultados bastante satisfactorios.

En la actualidad, la vacunación tiende a ser sustituida por la quimioprofilaxis, debido a que la inmunidad que confieren las vacunas muertas no se adquiere hasta 1 semana después de la segunda dosis, lo que limita su empleo en períodos epidémicos, no protege frente a la contaminación pulmonar y sólo persiste 4-6 meses, y, por otro lado, las vacunas vivas deben ser utilizadas antes de los 10 días después de ser preparadas.

Yersinia enterocolitica y Yersinia pseudotuberculosis

Son cocobacilos gramnegativos, de 0,5-0,8 × 1,5 × 2 μm, anaerobios facultativos, no esporulados y no fermentadores de la lactosa. Originan en los animales una serie de afecciones denominadas «yersiniosis» y en el hombre, que se infecta de una forma accidental, cuadros de localización fundamentalmente intestinal.

Y. pseudotuberculosis fue descrita en 1883 por Malassez y Vignal. Considerada primero como una micobacteria, fue incluida después en el género *Pasteurella* y en la actualidad se integra en el género *Yersinia*.

Y. enterocolitica, descrita por Gilbert en 1933, se denominó *Bacterium enterocoliticum*, *Pasteurella pseudotuberculosis* tipo B_1 y *Pasteurella X*.

ACCION PATOGENA

Patogenia

Se conoce poco acerca de los factores y determinantes de virulencia de estos microorganismos.

Y. pseudotuberculosis, a diferencia de *Y. pestis*, no produce coagulasa, fibrinolisina, pesticinas ni toxina murina, aunque sí una exotoxina. Tampoco posee la fracción antigénica 1 (F-1), pero un número reducido de cepas muestran un antígeno parecido. Sin embargo, posee antígeno V y W. La pigmentación es menor que la de *Y. pestis*, pero, al igual que ésta, su virulencia se potencia por la presencia de hierro. Posee una endotoxina de dudosa significación clínica y puede invadir las células y sobrevivir en su interior.

Y. enterocolitica, además de la endotoxina (lipopolisacárido de la pared) que tiene unas propiedades biológicas similares a las endotoxinas de otros bacilos gramnegativos, produce en el interior de las células epiteliales del intestino una enterotoxina termoestable similar a la de *E. coli*. Sobrevive en el interior de las células, como *Y. pseudotuberculosis* y tiene capacidad de adherencia a las células epiteliales.

La *patogénesis* se establece de la forma siguiente. Los gérmenes penetran con el agua y alimentos, invaden la mucosa íleo-cecal y alcanzan el interior de las células epiteliales, nódulos linfáticos (placas de Peyer) de la pared y ganglios linfáticos mesentéricos. Al poco tiempo aparece ulceración de la mucosa intestinal (posiblemente por acción de la endotoxina), necrosis de las placas de Peyer y linfoadenitis mesentérica purulenta.

Si se produce una invasión del sistema porta, aparecen lesiones nodulares y supurativas en el hígado, lesiones supuradas en el pulmón, meninges, etc. y también septicemia. La poliartritis, que muchas veces se observa, se trata probablemente de una lesión de tipo inmunológico.

Manifestaciones clínicas

Los cuadros y manifestaciones clínicas producidos por estas especies son similares. Se han aislado de personas con gastroenteritis, ileítis terminal, linfoadenitis intestinal y mesentérica y estados septicémicos, estos últimos en personas débiles o con defensas disminuidas.

La afección más frecuente producida por *Y. pseudotuberculosis* es la adenitis mesentérica, que cursa con fiebre y manifestaciones similares a una apendicitis. La enterocolitis, por el contrario, es el cuadro más común originado por la otra especie. Los principales procesos en los que estas bacterias están involucradas son:

Enterocolitis

Se presenta con fiebre, diarrea y dolor abdominal. Normalmente dura de 1-3 semanas. Las heces, en algunas ocasiones, muestran moco, pus y sangre. Se produce fundamentalmente en niños menores de 5 años.

Adenitis mesentérica e ileítis terminal

Pueden confundirse con apendicitis y se presentan en niños mayores y adolescentes.

Poliartritis reactiva

Aparece en el 10-30 % de los pacientes adultos con infección por *Y. enterocolitica* y afines a los 2 meses del cuadro diarreico agudo, y afecta las articulaciones de la rodilla, tobillo, muñeca y dedos de las manos y pies. La mayor parte de las veces, la manifestación articular es múltiple, con períodos de inflamación de 2-14 días. El proceso puede persistir varios meses. El líquido sinovial contiene abundantes polinucleares, pero los cultivos son negativos.

Eritema nudoso o multiforme

Aparecen a los 2-20 días del cuadro intestinal en piernas y tronco.

Septicemia

Es rara y se observa en personas debilitadas y con escasas defensas. Los pacientes con septicemia pueden desarrollar abscesos hepáticos y esplénicos, osteomielitis, infecciones de la piel y meningitis.

Infecciones urinarias y conjuntivitis

Entre otros cuadros clínicos también se han descrito como producidas por *Y. enterocolitica*.

DIAGNOSTICO

Directo

Las muestras válidas pueden ser: heces, sangre, nódulos linfáticos mesentéricos, líquido peritoneal, etc., según el asiento de la infección.

Aislamiento e identificación

El aislamiento e identificación a partir de las heces o de muestras que contengan otras bacterias son difíciles.

Los medios más adecuados son agar-sangre, agar-eosina-azul de metileno, agar-MacConkey, agar-SS. Las heces pueden cultivarse en el medio de selenito-novobiocina, que es de enriquecimiento. El hemocultivo en los casos de septicemia constituye otra posibilidad de diagnóstico directo no despreciable.

Es importante la siembra de dos medios, uno para incubar a 25 °C, donde crece mejor *Y. enterocolitica* y otro para incubar a 37 °C, donde se desarrolla mejor *Y. pseudotuberculosis*. El período de incubación mínimo será de 48 horas.

También puede recurrirse como método de enriquecimiento (antes de la siembra en medios de cultivo) a la refrigeración de las muestras contaminadas durante 3-4 semanas, que se colocan en solución salina isotónica con o sin telurito potásico a 4-7 °C.

La identificación se basa en los datos morfológicos y bioquímicos, patogenicidad para los animales y patrones de sensibilidad a los antibióticos y bacteriófagos. Las colonias son muy pequeñas a las 24 horas de incubación. Todas son móviles a 22-25 °C (con flagelos parapolares y perítricos) y no lo son a 37 °C. No son capsuladas. Producen ureasa y ácido en agar-TSI. No producen sulfhídrico.

La serotipia de las cepas aisladas puede realizarse por aglutinación en porta o por reacción de hemaglutinación. Sobre la base de sus antígenos O se han descrito 6 serogrupos (I-VI) en *Y. pseudotuberculosis* y 32 (O_1-O_{32}) en *Y. enterocolitica*. El serogrupo I es el más importante de *Y. pseudotuberculosis*.

Y. enterocolitica, sobre todo el serogrupo 9, presenta comunidad antigénica con la mayor parte de las cepas del género *Brucella*. El determinante antigénico responsable es probablemente el lipopolisacárido de la pared. También algunas cepas presentan comunidad antigénica con *Vibrio cholerae* serotipo *Inaba* y *E. coli*.

Y. pseudotuberculosis, además de estas mismas comunidades antigénicas, presenta reacciones cruzadas con los grupos A y B del género *Salmonella*.

Por lo que respecta a su distribución geográfica, el serogrupo 8 de *Y. enterocolitica* es el más frecuente en América, mientras que el 3 y el 9 lo son en Europa, Africa y Japón.

Indirecto

Tiene menos valor. Los anticuerpos aglutinantes son de aparición precoz y generalmente desaparecen a los 2-6 meses.

TRATAMIENTO

En general son sensibles *in vitro* a ampicilina, cloranfenicol, tetraciclinas, aminoglicósidos, sulfamidas y trimetoprim-sulfametoxazol, pero la sensibilidad varía de unas cepas a otras, por lo que es necesaria la realización del antibiograma. Se han encontrado cepas de *Y. enterocolitica* productoras de β-lactamasas.

El valor del tratamiento antibiótico en los cuadros de enterocolitis no está claramente establecido. Los antibióticos de elección en septicemias son para *Y. pseudotuberculosis* ampicilina, estreptomicina o tetraciclina y para *Y. enterocolitica* y otras especies afines, gentamicina.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Las yersiniosis son zoonosis que pueden transmitirse al hombre. El reservorio animal está constituido por animales domésticos, salvajes, invertebrados e incluso anfibios.

El hombre se infectaría por ingestión de alimentos procedentes de animales o de agua contaminada por éstos. La transmisión de persona a persona por mecanismo directo no parece posible, pero sí lo es por indirecto, pues se han observado pequeños brotes epidémicos en personal hospitalario. Este tipo de contaminación fecal-oral parece el principal en ambas especies.

No existen diferencias en cuanto al sexo, pero sí en cuanto a la edad: *Y. pseudotuberculosis* afecta a personas de 10-20 años de edad, en tanto que las otras especies atacan a niños más pequeños.

Al haber grandes lagunas en la epidemiología no existe una profilaxis general o específica válida. La educación sanitaria, medidas higiénicas en general y rotura de la vía fecal-oral son las medidas preventivas inespecíficas adecuadas para evitar estos procesos.

BIBLIOGRAFIA

Boyce, J. M.: *Yersinia* species. En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed., 1296-1301. Wiley, New York, 1985.

Bercovier, H.; Mollaret, H. H.; Alonso, J. M.; Fanning, G. R., y Brenner, D. J.: Intra- and interspecies relatedness of *Yersinia pestis* by deoxyribonucleic acid hybridization. Curr. Microbiol., 4, 225-230, 1980.

Bercovier, H., y Mollaret, H. H.: *Yersinia*. En Krieg, N. R., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology, Vol. 1, 498-506. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Brenner, D. J.; Feeley, J. C., y Feldman, R. A.: Confusion in bacterial nomenclature. ASM News, 48, 511-512, 1982.

Chen, T. H.: *Yersinia, Pasteurella* and *Francisella*. En Braude, A. I.; Davis, Ch. E., y Fierer, J. (dirs.): Medical Microbiology and Infectious Diseases, 333-345. W. B. Saunders, Philadelphia, 1986.

Gutman, L. T.: *Yersinia*. En Joklik, W. K.; Willet, H. P., y Amos, D. B. (dirs.): Zinsser Microbiology, 18.ª ed., 637-647. Appleton-Century-Crofts, New York, 1984.

Kanero, K., y Hashimoto, N.: Five biovars of *Yersinia enterocolitica* delineated by numerical taxonomy. In. J. Syst. Bacteriol., 32, 275-287, 1982.

Mollaret, H. H.: La peste. En Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Maladies Infectieuses, tomo 2, 8035, E10. Editions Techniques, Paris, 1972.

Sonnenwirth, A. C., y Swartz, M. N.: *Yersinia, Francisella, Pasteurella* and *Brucella*. En Davis, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row, Cambridge, 1980.

World Health Organization: Bacterial nomenclature. Weekly Epidem. Rec., 56, 399, 1981.

Capítulo 41

Vibrio, Spirillum y Campylobacter

José Angel García-Rodríguez

En el Manual de sistemática de Bergey, aparecen relacionados los géneros *Vibrio, Spirillum* y *Campylobacter*, agrupados sobre la base de sus características morfológicas y fisiológicas en dos secciones distintas.

En la **sección 5,** que trata de los bacilos gramnegativos anaerobios facultativos, está incluida la familia *Vibrionaceae*. Los miembros que la integran se parecen mucho a los de la familia *Enterobacteriaceae*, de los que se diferencian, entre otros caracteres, porque suelen ser oxidasa-positivos y porque son móviles gracias a disponer de flagelos polares. Esta familia incluye tres géneros de importancia médica: *Vibrio, Aeromonas* y *Plesiamonas*. Las especies del género *Vibrio*, de interés en clínica humana, son principalmente patógenos intestinales, en tanto que *Aeromonas* y *Plesiomonas* dan lugar a cuadros clínicos en diversas localizaciones.

La **sección 2** engloba bacterias gramnegativas, vibroides o helicoidales, móviles, aerobias o microaerófilas, incluidas en los géneros *Spirillum* y *Campylobacter*. Tienen un número variable de espiras y la movilidad que poseen se debe a flagelos polares que les proporcionan un movimiento en sacacorchos. La mayoría de las especies incluidas en esta sección tienen un «hábitat» acuático, pero existen otras que son saprofitas o patógenas para el hombre y los animales. Sólo en los géneros mencionados antes, *Spirillum* y *Campylobacter*, aparecen especies patógenas para el hombre. *Spirillum minus* produce la llamada fiebre por mordedura de rata.

Se trata de una especie situada provisionalmente en este género, pero que se considera como *species incertae sedis*, al no encajar perfectamente en las características que definen el género *Spirillum*.

Las especies del género *Campylobacter* son microaerófilas y móviles, por un único flagelo polar en uno o en ambos extremos.

Género Vibrio

Concepto y clasificación

Concepto

Este género está constituido por bacilos gramnegativos rectos o incurvados, no esporulados, anaerobios facultativos, que se caracterizan por su movilidad, debido a uno o varios flagelos polares y ser generalmente oxidasa-positivos. Son bacterias poco exigentes y se cultivan fácilmente en medios comunes, en concreto en los empleados para el aislamiento e identificación de las enterobacterias. El sodio estimula el desarrollo de las dos especies de este género, y algunas son halófilas y necesitan la incorporación a los medios de cultivo de un 7 % de ClNa, para su desarrollo y multiplicación. La sensibilidad a los agentes externos varía en relación con las diferentes especies; las más sensibles (*V. cholerae*) se encuentran normalmente en el intestino del hombre enfermo o portador y accidentalmente en alimentos y agua, y las más resistentes, en animales y aguas marinas. De su sensibilidad a los agentes externos, es necesario señalar su labilidad a pH ácido y su resistencia al alcalino.

Clasificación

De las más de veinte especies reconocidas del género, diez han sido relacionadas con cuadros clínicos en el hombre.

V. cholerae. Es la más importante. El serotipo O_1 da lugar en el hombre a un cuadro diarreico, que puede ser mortal a causa de la deshidratación que ocasiona. El proceso está provocado no por la invasión bacteriana, sino por la enterotoxina producida, que altera el fisiologismo de las células intestinales sin dañarlas. Asimismo, se ha aislado a partir de heridas infectadas.

Los serotipos restantes se han implicado en procesos gastrointestinales con diarrea o gastroenteritis y en cuadros extraintestinales, como las infecciones de heridas y las septicemias secundarias.

V. parahaemolyticus. Produce habitualmente gastroenteritis por ingestión de productos marinos. Los determinantes de su patogenicidad no están totalmente dilucidados, aunque interviene, sin duda, una hemolisina que entre otras ac-

ciones posee propiedades enterotóxicas. En algunas ocasiones se ha aislado de infecciones de heridas, de oído externo y de ojos.

V. vulnificus. Se le ha encontrado produciendo infecciones de heridas traumáticas y expuestas a ambientes marinos y septicemias primarias y secundarias. Se desconoce si tiene capacidad enteropatógena. Tras la penetración por vía digestiva puede producir septicemias, fundamentalmente en pacientes con enfermedades hepáticas, diabéticos o alcohólicos. Las infecciones de heridas que suelen ser graves y se acompañan de necrosis tisular son el origen de septicemias secundarias. Este vibrio se diferencia de las otras especies porque es capaz de fermentar la lactosa.

V. fluvialis. Se trata de un patógeno intestinal que puede ocasionar diarreas graves, si bien de manera excepcional.

V. mimicus. Esta especie es bioquímicamente idéntica a *V. cholerae*, salvo en su incapacidad para fermentar la sacarosa. Se le ha encontrado produciendo diarreas, de manera especial en personas que habían consumido ostras y también se ha aislado a partir de infecciones óticas.

V. hollisae. Se ha obtenido de personas con diarrea que habian consumido pescado crudo. También se ha encontrado en sangre de casos de septicemia.

V. furnisii. Como otros vibrios, esta especie se involucra en gastroenteritis aparecidas tras la ingestión de alimentos marinos.

V. alginolyticus. Se trata de un vibrio marino que produce fundamentalmente infecciones de herida y otitis media. También se ha encontrado en infecciones oculares.

V. damsela. Se trata de un patógeno extraintestinal que ocasionalmente se le ha responsabilizado de infecciones de herida.

V. metschnikovii. Aunque esta especie se ha aislado de forma accidental en algún tipo de infecciones, es necesario profundizar en su estudio para conocer su verdadero papel en clínica humana. Hasta el momento presente se ha recuperado de productos patológicos procedentes de peritonitis e infecciones de herida y urinarias. Se trata de la única especie del grupo que es oxidasa-negativa.

Todas las especies del género son halófilas, a excepción de *V. cholerae* y *V. mimicus*.

Con excepción de *V. cholerae*, los cuadros gastrointestinales surgen por ingestión de productos de origen preferentemente marino y con frecuencia crudos.

Las infecciones cutáneas se producen por contacto con agua o con la fauna marina, de manera preferente en personas que padecen una herida previamente.

V. CHOLERAE

Clasificación y composición antigénica

Vibrio cholerae tiene tres componentes antigénicos principales:

Tabla 41-1. Factores antigénicos del serogrupo 01

Serotipos	Factores O
Ogawa	A, B
Inaba	A, C
Hikojima	A, B, C

1. La exotoxina de naturaleza proteica y termolábil, que da lugar a anticuerpos neutralizantes.
2. El antígeno flagelar o «H» que es común a todos los biotipos.
3. El antígeno somático u «O», de naturaleza lipopolisacárida (LPS). Pero a diferencia del LPS de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* carece de 2-ceto-3-desoxioctanato. Sobre la base de este último *V. cholerae* se divide en serogrupos. Hay dos sistemas: en uno de ellos se distinguen 60 serovares (Sakazaki y cols., 1970) y en el otro, 72 (Shimada y Sakazaki, 1976). El serovar 0:1 es el mismo en ambas clasificaciones y es el responsable del cólera epidémico o pandémico. Dentro del serovar 0:1 existen tres factores antigénicos A, B y C. El factor A es específico de grupo y los determinantes B y C lo son de tipo. Las distintas combinaciones de estos tres factores antigénicos dan lugar a tres serotipos: Ogawa, Inaba e Hikojima (tabla 41-1).

El serogrupo o serovar 0:1 engloba los biovares o biotipos clásico y eltor. Dentro del serovar O_1 se han reconocido cepas que no producen enterotoxina y suelen encontrarse en el medio ambiente. Estos serovares se han denominado *V. cholerae* 0:1 atípicos. El resto de serovares se denominan *V. cholerae* no 0:1 y son los que anteriormente se denominaban vibriones no coléricos, vibrios NAG o no aglutinables con el suero anti-0:1. Se les ha encontrado responsables de cuadros coleriformes con diarreas leves o de procesos extraintestinales.

Acción patógena

Patogenia

Determinantes patogénicos. Esta bacteria muestra anatómica y fisiológicamente unas determinadas estructuras y produce una serie de sustancias que condicionan su poder patógeno para el hombre.

Estructuralmente, el flagelo tiene gran importancia patogénica, pues le permite penetrar en el moco que cubre las células del intestino delgado. Se desconoce la importancia en el desarrollo de la enfermedad de la endotoxina o lipopolisacárido de la pared celular.

Existen pruebas experimentales que permiten afirmar que esta bacteria produce una adhesina, es decir, un factor que le permite adherirse a la pared intestinal, y existe una correlación entre la gravedad del cuadro y la capacidad de adherencia de la cepa. Esta adhesina parece estar asociada al antígeno somático.

El biotipo eltor produce una hemolisina difusible, cuya importancia patogénica es desconocida. Esta especie produce, además, neuraminidasa o sialidasa, mucinasa y proteasa, que presumiblemente son importantes para descubrir receptores de la toxina y penetran en la capa de moco, que recubre las células del intestino delgado.

El componente químico determinante de la patogenicidad y de que el cólera sea una enfermedad tóxica, no invasiva, es la exotoxina. Por actuar en el tubo digestivo es una enterotoxina y se denomina específicamente «colerágeno». Es una sustancia proteica, de alrededor de 84.000 daltons y que consta de dos fracciones. La A de 28.000 daltons es la activa farmacológicamente y la B, o «coleragenoide», de 56.000 daltons, es la que se une a los receptores específicos existentes en la membrana citoplásmica de las células intestinales para permitir la actuación de la fracción A, la cual es inmunogénica, pero no tóxica. A su vez, la fracción A consta de dos partes A_1 y A_2; la primera es activa y la segunda permite la unión de la fracción B que consta de 5 fragmentos más pequeños.

La exotoxina es una sustancia antigénica y se transforma en anatoxina; su control genético de producción es cromosómico, y es semejante a la toxina TL (termolábil) de *E. coli* y tiene su mismo mecanismo de acción.

No obstante, hay cepas de *Vibrio cholerae* 0:1, que producen diarrea y no sintetizan enterotoxina por carecer de los genes estructurales necesarios para ello. En este caso, el cuadro podría deberse a la producción de otras toxinas o a la capacidad de adherencia y multiplicación del microorganismo a la mucosa intestinal.

La patogenia y los factores patogénicos, que condicionan los cuadros diarreicos por *Vibrio cholerae* no 0:1, no son perfectamente conocidos. Se han señalado las siguientes posibilidades:

1. Producción de una toxina colérica o pseudocolérica.
2. Elaboración de una enterotoxina termoestable.
3. Colonización e invasión de la mucosa.

Mecanismo patogénico. Para que el vibrio colérico sea capaz de provocar la enfermedad infecciosa, se requiere que cumpla cuatro requisitos:

1. Penetración por vía oral.
2. Sobrepasar la barrera gástrica.
3. Evitar la eliminación por el peristaltismo intestinal.
4. Producir enterotoxina.

Vibrio cholerae sólo ejerce su acción patógena cuando penetra por vía oral, a través de la ingestión de aguas o alimentos contaminados, y es necesaria para que aparezca la enfermedad al menos la ingestión de 10^8 gérmenes.

La barrera defensiva más importante del huésped ante la penetración de esta bacteria es el estómago. Dada su sensibilidad al pH ácido, *V. cholerae* sucumbe rápidamente si el estómago está vacío. Para atravesar esta barrera, es necesario que el pH del jugo gástrico aumente por dilución al beber líquidos o bien por el efecto tampón que produce la ingestión de alimentos. Se ha comprobado que la infección es más frecuente en individuos con hipoclorhidria y gastrectomizados. Experimentalmente se ha visto que la ingestión de bicarbonato sódico disminuye la dosis infectante de la bacteria, de 10^8 a 10^4 microorganismos.

Al llegar al intestino delgado, el microorganismo debe evitar la eliminación por el peristaltismo, lo que consigue por distintos mecanismos: producción de una adhesina y penetración en la capa mucosa que recubre las células intestinales mediante el movimiento activo proporcionado por su flagelo y por la acción de la neuraminidasa, mucinasa y proteasa. Además, está dotado de quimiotactismo por la mucosa intestinal. Puesto el vibrión colérico en contacto con las microvellosidades intestinales, produce la enterotoxina, que mediante su fracción B se une a los receptores específicos, constituidos por el ganglíósido GM_1, que sólo tiene un radical de ácido siálico (ácido neuramínico). Parece que la neuraminidasa actúa sobre los ganglíósidos GD_1 y GT_1 transformándolos en GM_1, con lo que el número de receptores de la toxina aumenta. Esta unión permite la actuación de la fracción A, cuya acción farmacológica consiste en modificar la fisiología del mecanismo secretor de la membrana citoplásmica de las células del intestino delgado. Recientemente se ha demostrado que el mecanismo íntimo de acción de la fracción A es semejante al de la toxina diftérica, pues tiene una actividad ADP-ribosil-transferasa.

La fracción A hidroliza el NAD en niacín-difosforribosa, que transfiere la GTP-asa, reguladora de la actividad de la adenilciclasa, con lo que esta enzima se estimula. Como consecuencia de ello, el ATP se transforma en AMP cíclico, y el aumento de este producto da lugar a una liberación activa de agua, cloro y, por ello, de bicarbonato y potasio, y una inhibición de la absorción del sodio por las células intestinales. Esta alteración de la fisiología de las células intestinales es la responsable de los hechos más significativos del cólera: diarrea, deshidratación y pérdida de electrólitos. No se observa alteración anatomopatológica alguna. En la figura 41-1 se muestra en esquema la patogenia del cólera.

Cuadro clínico

Vibrio cholerae 0:1 produce el cólera.

La enfermedad tiene un período de incubación de 1-5 días, al término de los cuales surgen los síntomas, que fundamentalmente son vómitos y diarreas. Los cuadros diarreicos son variables y pueden oscilar de leves a graves, y llevar a la muerte en pocas horas.

La diarrea al principio es fecaloidea y toma posteriormente aspecto de «agua de arroz» (agua con electrólitos y restos de mucosa desprendidos). La pérdida por la diarrea puede llegar a ser de hasta 30 l diarios, y, así, a las pocas horas de aparecer el cuadro, el sujeto puede morir.

La diarrea da lugar a una pérdida de agua del espacio extracelular e intravascular, lo que se traduce en una deshidratación e hipovolemia. La deshidratación se manifiesta por la presencia de piel arrugada, afilamiento de la nariz, hundimiento de los ojos y del abdomen, hipovolemia por hemoconcentración, pulso y presión arterial no perceptibles, taquicardia y taquipnea, cianosis, oliguria, anuria, shock y muerte. Como existe pérdida de electrólitos, hay hipocalemia, la cual provoca contracciones musculares dolorosas (calambres) y acidosis metabólica por pérdida de CO_3H^-.

Este cuadro no es siempre tan grave, las formas leves recuerdan gastroenteritis y existen formas asintomáticas. El biotipo clásico es el más agresivo y la frecuencia con que produce formas graves en relación con leves o asintomáticas es de 1:5-10. Cuando el agente etiológico es el biotipo *eltor*, esta proporción es de 1:25-100.

Es posible, si bien raro, encontrar involucrado el *Vibrio cholerae* 0:1 en infecciones de heridas y en otras localizaciones.

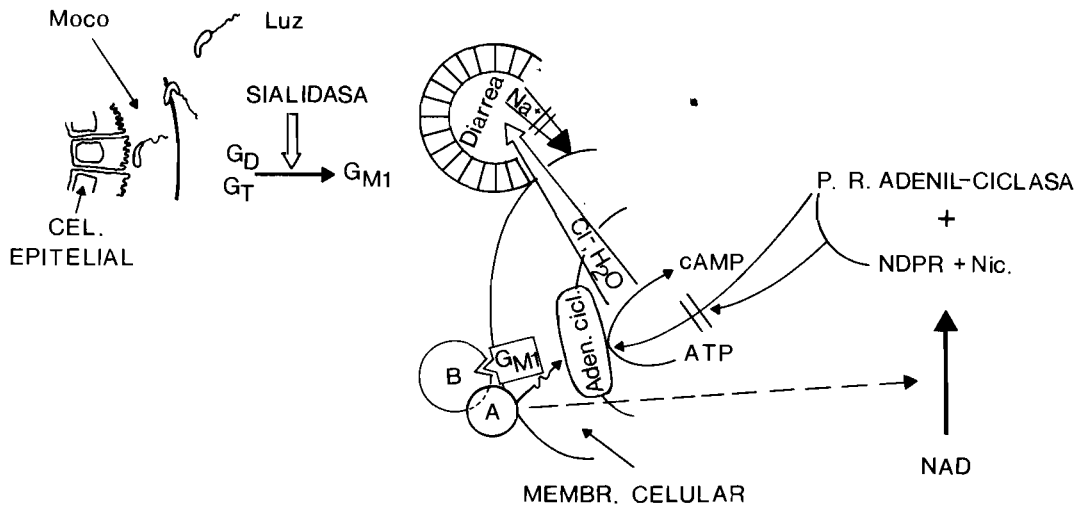


Fig. 41-1. Patogenia del cólera.

V. cholerae no 0:1 produce tanto infecciones intestinales como extraintestinales. En el primer caso produce cuadros que van desde gastroenteritis semejantes al cólera a diarreas leves. En las heces puede observarse, en ocasiones, la presencia de sangre y moco, y los pacientes pueden padecer fiebre.

Entre las infecciones extraintestinales se ha aislado *V. cholerae* no 0:1 en septicemias secundarias en pacientes cirróticos o con otras enfermedades de base e infecciones de heridas, oído, respiratorias y urinarias.

Diagnóstico bacteriológico

Es necesario efectuarlo siempre, aunque la clínica, especialmente en las formas graves, nos ofrezca casi un diagnóstico de certeza. Su realización permite reconocer el agente etiológico y tiene gran interés desde un punto de vista epidemiológico.

Diagnóstico directo

Toma de muestras. Durante la fase aguda de la enfermedad son válidos para establecer el diagnóstico tanto los vómitos como las heces diarreicas, especialmente estas últimas. Es necesario realizar la toma rápidamente, por un lado, para evitar la lisis de estos microorganismos, que son muy sensibles a los agentes externos (desecación, luz solar, pH ácido) y al crecimiento de otros microorganismos, y, por otro, poder instaurar precozmente el tratamiento antibiótico. Para el coprocultivo, el producto se tomará con un hisopo rectal o una sonda y posterior aspiración. La aplicación de purgantes es útil para aumentar el porcentaje de aislamiento del microorganismo en portadores.

Dada la sensibilidad del microorganismo a los agentes externos, si la siembra del producto no se hace inmediatamente, se debe inocular en un medio de transporte, como el de Stuart o modificaciones de éste, como la de Cary-Blair o Amies, o en un medio de enriquecimiento.

Examen directo. Algunos de los procedimientos que se pueden utilizar permiten establecer un diagnóstico rápido de presunción.

Con el producto obtenido se debe realizar:

1. Una tinción de Gram, en la que *Vibrio cholerae* se presenta como un bacilo gramnegativo pequeño (0,5 × 1,5-3 μm), con formas en coma «C» o «S».
2. Una extensión en fresco entre porta y cubre y observación de ella con un microscopio de fondo oscuro o de contraste de fases. En el caso del cólera se observa que los microorganismos se mueven rápidamente, como bandadas de peces.
3. La prueba de inmovilización de los vibrios, que consiste en añadir a una extensión preparada de la forma antes mencionada un antisuero 0:1 sin conservantes. En el caso de que las bacterias observadas sean *Vibrio cholerae* biotipos *cholerae* o *eltor*, se observará una interrupción inmediata de la movilidad.
4. Inmunofluorescencia directa.

Aislamiento e identificación. Una vez tomada la muestra según se señalaba anteriormente, se debe sembrar inmediatamente en medios normales, selectivos y de enriquecimiento. Si no es posible realizar esta operación, el producto se inocula en un medio de transporte y posteriormente se siembra en los medios citados. El esquema que hay que seguir es el que se muestra en la tabla 41-2.

Como medios normales se pueden utilizar agar nutritivo o agar con gelatina y taurocolato, y como selectivos, TCBS (tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa) y TTGA (telurito-taurocolato-gelatina-agar). En los medios con gelatina se observa empleando una lupa dotada con luz oblicua, alrededor de las colonias de *Vibrio cholerae*, una zona de opacificación; esto se debe a la producción de gelatinasa por el microorganismo. En el medio de TCBS, que es verde y muy selectivo, se producen unas colonias amarillas por la fer-

Tabla 41-2. Esquema de aislamiento e identificación

Muestra		
Medios normales Medios selectivos	Medios de transporte	Medios de enriquecimiento

Tabla 41-3. Caracteres diferenciales de Vibrio, Aeromonas y Plesiomonas

	Vibrio	*Aeromonas*	*Plesiomonas*
Descarboxilasa de la lisina	+	−	+
Descarboxilasa de la ornitina	+	−	+
Hidrolasa de la arginina	−	+	+

Tabla 41-4. Diferencias de los biotipos clásico y eltor de V. cholerae

	Biotipo	
	Clásico	Eltor
Hemólisis en tubo	−	+
Aglutinación de hematíes de pollo	−	+
Prueba de Voges-Proskauer (22 °C)	−	+
Susceptibilidad al fago IV (clásico)	+	−
Susceptibilidad al fago V (eltor)	−	+
Sensibilidad a la polimixina B (50 UI)	+	−

mentación de la sacarosa y en TTGA las colonias desarrollan un centro negro por la reducción del telurito.

El agua de peptona alcalina se comporta como medio de enriquecimiento, gracias a su pH elevado de 8,5, que no inhibe el crecimiento de *V. cholerae*, pero sí el de otros microorganismos. En este medio se hacen dos pases de 6 horas.

A partir de las colonias sospechosas se puede efectuar una identificación presuntiva mediante la prueba del filamento o *string test*, que se basa en la capacidad que tienen las colonias de *V. cholerae* de producir una sustancia mucosa, cuando se emulsionan en una solución de desoxicolato sódico al 0,5 %. De esta manera se forma un filamento mucoso cuando se toca esta sustancia con un asa.

Para la identificación de género se realizan las mismas pruebas empleadas con las enterobacterias. Mediante la reacción de la indofenoloxidasa, que es positiva, diferenciamos los miembros de la familia *Vibrionaceae* de estas otras bacterias. La búsqueda de las descarboxilasas de la lisina y de la ornitina, y de la hidrolasa de la arginina tiene gran interés para diferenciar el género *Vibrio* de otros relacionados, como *Aeromonas* y *Plesiomonas* (tabla 41-3).

Una vez realizada la identificación de género, *Vibrio cholerae* se diferencia de *V. parahaemolyticus* en que este último es estrictamente halófilo.

Realizada la identificación bioquímica, se procede a una caracterización serológica con antisuero 01, que permite diferenciar los biotipos *cholerae* y *eltor* de los vibrios NAG. Posteriormente se enfrenta la cepa aislada con sueros monoespecíficos, para incluirla en el serotipo Ogawa, Inaba o Hikojima.

Los caracteres diferenciales que permiten separar el biotipo *cholerae* del biotipo *eltor* se señalan en la tabla 41-4.

Diagnóstico indirecto

Las pruebas serológicas tienen valor para establecer un diagnóstico retrospectivo y particular interés epidemiológico para determinar la etiología de cuadros diarreicos, en los que no se ha podido aislar e identificar el agente etiológico. Se efectúan dos tomas de suero, una al comienzo de la enfermedad y otra a los 15 días; para que tenga valor, el título de anticuerpos, debe haberse incrementado cuatro veces. Se buscarán anticuerpos vibrionicidas o aglutinantes.

Tratamiento

Rehidratación

El cólera no es importante por el poder invasivo de su agente causal, sino por la deshidratación que produce. Por lo tanto, el tratamiento de entrada es la rehidratación urgente y rápida del enfermo, con aporte de agua y electrólitos en unas cantidades y concentraciones semejantes a las que pierde.

Cuando las pérdidas son muy intensas o el paciente está en estado de shock, se emplea la vía intravenosa. En estos casos, la aplicación debe hacerse de forma rápida. Al principio se administran de 50-100 ml por minuto hasta que se palpe el pulso radial. La vía que hay que emplear es una vena del brazo, la yugular o la femoral. La composición de los diferentes líquidos que pueden utilizarse se refleja en la tabla 41-5.

Una vez conseguida la rehidratación de vía venosa o en los casos que existen pérdidas moderadas, se utiliza la vía oral. El fundamento de esta aplicación radica en que la absorción de la glucosa está sostenida y, al realizarse, se absorben con ella los distintos electrólitos. Se administran éstos con glucosa a altas concentraciones (tabla 41-6).

Tabla 41-5. Soluciones de rehidratación intravenosa

	Concentración (mEq o mol/l)				
	Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-	Glucosa
Solución para tratamiento de diarreas (STD)	118	13	83	48	50
Solución de Dacca (5/4/1) 5 g de NaCl 4 g de $NaHCO_3$* 1 g de KCl	134	13	99	48	0
Solución lactato de Ringer	131	13	111	29	0

*El acetato puede sustituir el bicarbonato para una solución más estable; acetato sódico anhidro, 3,8 g/l, o si se usa el triple hidrato, 6,5 mg/l.

Tabla 41-6. Soluciones de rehidratación oral

	Peso en g de sal para añadir a 1 l de H_2O	Concentración (mEq o mol/l)				
		Na	K	Cl	HCO_3	Glucosa
Solución de la OMS		90	20	80	30	111
NaCl	3,5					
CO_3HNa	2,5					
KCl	1,5					
Glucosa	20					
Solución para mantener en casa:		85	85	85		111
NaCl	5					
Glucosa*	20					

*Puede sustituirse por sacarosa 40 g/l.

Antibioterapia

La administración de antibióticos, aunque no modifica la fisiopatología de la enfermedad, es útil, ya que, al reducirse la cifra de vibriones, decrece la producción de exotoxina, con lo que la duración y volumen de las diarreas son menores. El antibiótico de elección es la tetraciclina o un derivado de ésta, que se administra a razón de 30-40 mg/kg de peso y día, fraccionados en 4 tomas cada 6 horas; en niños, 15 mg/kg de peso y día. La tetraciclina contribuye a la eliminación de portadores a causa de su eliminación biliar. Se pueden emplear también cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol y furazolidona. Este último antibiótico es el de elección para niños y embarazadas. La duración del tratamiento antibiótico será de 5 días.

Otras medidas

Es necesario corregir todas aquellas alteraciones que pueden surgir al administrar líquidos y electrólitos (hipoglucemias, acidosis y desequilibrios) y así como las consecuentes de las pérdidas (fallo renal).

Epidemiología y profilaxis

Desde 1817 han sucedido 7 pandemias. Las 6 primeras estaban producidas por el biotipo *cholerae* y la última, que partió de las islas Célebes, por el biotipo *eltor* serotipo Ogawa. Esta última pandemia llegó a España por vez primera en 1971; a partir de este año han existido algunos brotes más; el último se produjo en 1980, en Málaga, con 4 casos declarados, uno de ellos de origen marroquí.

El cólera es una enfermedad endémica de la zona de Bengala en la India y de Bangladesh. Normalmente surge en brotes epidémicos holomiánticos.

El reservorio es exclusivamente el hombre, aunque en períodos en los que hay infecciones humanas se han encontrado vibriones en animales domésticos. El hombre enfermo elimina los vibriones con las heces y vómitos. Los portadores aparecen tanto para el biotipo *cholerae* como para *eltor*, pero son más frecuentes en relación con los casos clínicos con este último, 10/1 frente a 4/1. Existen dos tipos de portadores: los convalecientes y los crónicos. Aquéllos eliminan el microorganismo durante unos meses a 1 año y suelen ser individuos de menos de 50 años de edad. Los crónicos presentan la bacteria en su vesícula biliar y suelen ser mayores de 50 años. En éstos la eliminación de *V. cholerae* es intermitente; sólo aparece en el curso de diarreas, en el que se vence el antagonismo que existe en el intestino grueso para esta bacteria y que se debe en gran parte a la concurrencia bacteriana y a los metabolitos ácidos producidos por las bacterias anaerobias.

Aunque existe el contagio directo, éste no es el más frecuente; son raros los casos en que aparecen en médicos y enfermeras. Suele ser indirecto, a través de agua y alimentos contaminados (leche, verduras y frutas regadas con aguas contaminadas, pescados y mariscos) y también a través de las moscas.

En la prevención es necesario establecer un diagnóstico y tratamiento precoz de los enfermos y portadores para que no eliminen la bacteria.

Es una enfermedad de declaración obligatoria internacional. Así, cuando llega un sujeto procedente de una región endémica de otro país, debe vigilársele durante 5 días, que son el tiempo correspondiente al período de incubación.

Para prevenir la enfermedad, es necesario establecer medidas sanitarias y educar a la población. Para esto será necesario clorar el agua, hervir o higienizar la leche, cocinar adecuadamente los alimentos, desinfectar las verduras, pelar la fruta, lavarse las manos, no bañarse en aguas presuntamente contaminadas, desinfectar las heces del enfermo con lejía y efectuar una evacuación de heces y excretas sanitariamente correcta (con una perfecta depuración que evite la contaminación de las aguas).

Para proteger a la población sana, puede establecerse una quimioprofilaxis con tetraciclina durante 5 días, pero no es una medida generalmente recomendada.

En el curso de la infección por *V. cholerae* aparecen anticuerpos aglutinantes, vibriocidas y neutralizantes, tanto a nivel general como digestivo (coproanticuerpos). Para estimular la producción de anticuerpos se han elaborado vacunas; las más utilizadas son las muertas por el calor o formol, con una concentración de 8.000-10.000 millones de gérmenes por mililitro. Se administran en dos dosis, la primera de 0,5-1 ml y la segunda de 1 ml, 1-3 semanas después. Su eficacia es relativa; por un lado, sólo disminuye la deshidratación, pero no la difusión de la enfermedad, y, por otro, la inmunidad es muy breve, de 3 a 6 meses. En la actualidad se investigan vacunas muertas asociadas a adyuvantes, vacunas compuestas con la anatoxina, obtenida por distintos procedimientos, y vacunas con cepas atenuadas o preparadas mediante ingeniería genética.

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS

Se trata de un microorganismo marino que habita en los estuarios y zonas costeras de mares tropicales y templados. En estos últimos, en el invierno, sólo se encuentra en los sedimentos marinos. Es un vibrio estrictamente halófilo. Su papel como agente responsable de gastroenteritis se puso de manifiesto en Japón a principio de la década de los años cincuenta.

Estructura antigénica

Posee tres componentes antigénicos principales:

1. Antígeno H o flagelar, que es común con otros vibrios. En medios sólidos produce flagelos laterales, que son antigénicamente diferentes.
2. Antígeno K o capsular. De naturaleza polisacárida, como en el caso de otros bacilos gramnegativos, es el responsable de la O-inaglutinabilidad. Existen 59 tipos de antígeno K.
3. Antígeno O, o antígeno somático, de naturaleza lipopolisacárida con 12 tipos conocidos.

Acción patógena

Determinantes patogénicos y mecanismo de patogenicidad

No se conoce en profundidad cuál es el mecanismo por el que *V. parahaemolyticus* produce la diarrea. Lo que sí se ha demostrado es que la casi totalidad de las cepas aisladas de estos cuadros producen hemólisis en el agar de Wagatsuma, en tanto que las aisladas del medio ambiente no lo hacen. Esta capacidad hemolítica se conoce como fenómeno de Kanagawa y es debida a la producción por estas cepas de una hemolisina termoestable (hemolisina de Kanagawa), que tiene un peso molecular de 42.000. Es letal para el ratón, citotóxica y cardiotóxica.

Las cepas Kanagawa-positivas poseen mayor capacidad de adherencia a las células intestinales y son más bacteriémicas. En India y Bangladesh, donde producen cuadros disenteriformes, se ha demostrado su capacidad para invadir el intestino, hecho también comprobado en el epitelio intestinal de conejos lactantes. A pesar de esta propiedad, no dan positiva la prueba de Sereny. En algunos pacientes se han detectado anticuerpos frente a esta hemolisina. A pesar de estos datos y debido a que sólo a altas concentraciones da lugar a una reacción positiva aislada en asa ileal del conejo, su papel enteropatógeno es dudoso. Se considera por ello probable que intervengan otros factores patogénicos.

Cuadro clínico

V. parahaemolyticus produce fundamentalmente cuadros gastrointestinales. No obstante, se le aísla también de infecciones extraintestinales y se le ha considerado el agente causal.

La gastroenteritis aparece después de un período de incubación de 4-96 horas, tras la ingestión de un producto marino contaminado. Clínicamente se puede manifestar de dos formas. La más frecuente es una *diarrea acuosa* sin moco o sangre, generalmente autolimitada, pero que puede ocasionar un cuadro pseudocolérico. A nivel digestivo puede ir acompañada de náuseas, vómitos y dolores abdominales y a nivel general, de cefaleas, fiebre y escalofríos. El proceso suele curar espontáneamente en 72 horas, aunque en ocasiones los síntomas pueden durar 10 días.

Con menos frecuencia se le ha encontrado produciendo cuadros disenteriformes con moco o sangre y con un período de incubación más corto.

Las infecciones extraintestinales son raras y localizadas, como infecciones de herida, óticas y oculares. Más raramente pueden producir septicemias.

Diagnóstico bacteriológico

El tipo de muestra y la forma de procesarla son las mismas que hemos analizado para *V. cholerae*. Se siembra inmediatamente o se mantiene hasta realizar la siembra en un medio de transporte. Los productos se inoculan a la vez en un medio selectivo, TCBS, y uno de enriquecimiento, agua de peptona alcalina con un 3 % de ClNa, a partir del cual y al cabo de una noche se resiembra en TCBS. Los pasos para la identificación bioquímica que hay que dar ulteriormente son los mismos que se han señalado para *V. cholerae*. Como la práctica totalidad de las cepas enteropatógenas producen la hemolisina termoestable, es necesario realizar la prueba de Kanagawa, sembrado en el medio de Wagatsuma en que se demuestra su existencia.

Tratamiento

No suele ser necesario, pues en la mayor parte de las ocasiones el proceso cura espontáneamente. En los casos graves hay que rehidratar al paciente, corregir el desequilibrio electrolítico y administrar antibióticos. El microorganismo es sensible a cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina y ácido nalidíxico, siendo la tetraciclina el fármaco de elección (2 g/día).

Epidemiología y profilaxis

Como el «hábitat» de *V. parahaemolyticus* está constituido por las aguas marinas próximas a las costas, el hombre puede infectarse al ingerir pescados o mariscos contaminados crudos o insuficientemente cocidos que se dejan después a temperatura ambiente. Estos alimentos pueden también contaminarse después de su recogida por agua de mar o por medio de recipientes que han contenido alimentos en los que existía *V. parahaemolyticus*. Las infecciones localizadas suelen aparecer por contacto directo con el ambiente marino.

La enfermedad suele surgir en brotes holomiánticos, explosivos, en individuos que han ingerido uno de estos alimentos, y es particularmente frecuente en Japón.

En la prevención habrá que tener en cuenta que *V. parahaemolyticus* posee un rápido tiempo de generación (9 min). Los alimentos que se consumen crudos, al igual que

los cocidos que puedan contaminarse, deberán refrigerarse adecuadamente para evitar que el microorganismo al multiplicarse alcance la concentración infectante necesaria. Para que aparezca la enfermedad deben superar la barrera gástrica entre 10^5 a 10^7 bacterias.

Otras medidas que hay que poner en práctica son la cocción adecuada de pescados y mariscos, y el evitar utilizar aguas de mar contaminadas. Hasta el momento no existe ninguna vacuna disponible.

GENEROS AEROMONAS Y PLESIOMONAS

En este apartado se analizan las especies de los géneros *Aeromonas* y *Plesiomonas*, que son patógenas para el hombre.

La taxonomía del género *Aeromonas* no está totalmente aclarada. Se admite la existencia de especies inmóviles. En estas últimas se incluye *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. sobria*, que se han relacionado con cuadros clínicos en el hombre. Este conjunto de especies se ha denominado *Aeromonas hydrophila complex* o *Aeromonas hydrophila punctata complex*. Tienen su hábitat en el agua (dulce –estancada o no–, salada y residual) y en el suelo. Constituyen parte de la flora de animales acuáticos y se han descrito, además, en portadores fecales asintomáticos humanos.

Habitualmente se les describe como agentes patógenos de animales de sangre fría. En el hombre se les ha implicado en cuatro tipos de procesos:

1. Infecciones de herida o celulitis por exposición al agua o suelo.
2. Cuadros diarreicos agudos, de corta duración, que pueden ser coleriformes o disentéricos.
3. Septicemia. Suele asociarse a enfermedades hepatobiliares, pancreáticas o procesos malignos, en especial leucemias agudas.
4. Otros. Se trata de procesos raros e incluyen endocarditis, infecciones urinarias, osteomielitis, meningitis, otitis, peritonitis e infecciones de tejidos blandos.

Aunque se desconocen muchos aspectos de la patogenia de la infección por *Aeromonas* spp., se sabe que elaboran una serie de productos cuyo significado no está totalmente aclarado. Se han descrito α y β-hemolisinas citotóxicas, leucocidinas, proteasas, peptidasas, elastasas, adhesinas y al menos una enterotoxina. En la patogenia de la diarrea intervienen la adhesina y la enterotoxina (PM de 15.000-20.000 daltons), que es citotóxica y termolábil, y parece que actúa a través del AMPc. Se desconoce si produce alguna toxina termoestable y se han encontrado cepas que son enteroinvasivas.

Desde el punto de vista bioquímico, las cepas patógenas son Voges Proskauer y lisina-decarboxilasa positivas.

Las cepas de aeromonas son sensibles a ureidopenicilinas, cefalosporinas de segunda y tercera generación, aminoglicósidos, tetraciclinas, cloranfenicol y cotrimoxazol. Se desconoce la utilidad de estos antimicrobianos en los casos de diarrea moderada, pero parece que pueden ser útiles en los casos graves y en enfermos inmunodeprimidos, para evitar la septicemia.

La única especie del género *Plesiomonas*, *P. shigelloides*, es un patógeno ocasional del hombre. Se encuentra en aguas dulces y forma parte de la flora fecal de animales acuáticos y otras especies animales, pero no del hombre. En la especie humana se ha encontrado en casos de gastroenteritis, celulitis, septicemias y meningitis. Su sensibilidad a los antibióticos es semejante a la de aeromonas.

Spirillum

Dentro de este género, sólo tiene importancia médica *Spirillum minus*, de situación taxonómica no clara (de ahí que se considere *species incertae sedis;* probablemente deba incluirse en el género *Campylobacter*). Esta especie es el agente etiológico de una de las dos formas de «la fiebre por mordedura de la rata», conocida con el nombre de «sodoku»; la otra es la producida por *Streptobacillus moniliformis*.

Cuadro clínico

Después de la mordedura hay un período de incubación de 5 a 14 días, tras el cual la lesión inicial se indura, se inflama, se torna purpúrea y se hace dolorosa. En ocasiones aparece una úlcera indurada, con una costra negra que semeja un chancro. La diseminación del germen da lugar a la aparición de una linfangitis con adenitis regional. Al desarrollarse esta lesión, aparece malestar general, dolor de cabeza y un aumento repentino de la temperatura con las características de una fiebre recurrente. La fiebre es alta de 39,5-40 °C y permanece de 24 a 48 horas, al cabo de las cuales baja hasta que se normaliza la temperatura, que se mantiene de 3 a 9 días. Esta recurrencia puede durar meses y desaparece de forma gradual. Durante la primera semana de fiebre aparece una erupción maculopapular, con una coloración eritematosa o purpúrea que se extiende a partir de la lesión inicial.

Diagnóstico

Spirillum minus no se ha cultivado en medios artificiales, por lo que para establecer el diagnóstico es necesario recurrir a la visión directa y a la inoculación de animales de experimentación. Se parte del exudado de la lesión inicial, de muestras tomadas de los nódulos linfáticos, de la erupción cutánea o de la sangre del enfermo.

Se puede hacer una observación en fresco con un microscopio de fondo oscuro o de contraste de fases. En la preparación se ve la estructura, la movilidad y los flagelos, *Spirillum minus* es un bacilo corto (0,5 × 1,7-5 μm), rígido, en espiral, con 2 a 6 espiras, y móvil con dos penachos de flagelos polares.

Aunque es un bacilo gramnegativo, para visualizarlo es necesario recurrir a las tinciones de Giemsa o Wright o a la impregnación argéntica con el método de Fontana-Tribon-

deau. A veces se debe recurrir a la inoculación experimental, y se emplean para ello el ratón o el cobayo. Antes se ha de comprobar que estos animales no están ya parasitados por este microorganismo, lo que haría inútiles las pruebas. Al cabo de 2-3 semanas se busca *S. minus* en la sangre o líquido peritoneal, por observación directa en fresco o por tinciones.

En el curso de la enfermedad pueden positivizarse las pruebas serológicas empleadas para el diagnóstico de la sífilis, así como la reacción de Weil-Felix con *Proteus* OX.

Epidemiología y tratamiento

El reservorio está constituido por ratas, ratones y otros roedores, que inoculan el microorganismo por mordedura. La enfermedad es primariamente un proceso bacteriémico de estos animales. Se ha comprobado que el gato y otros animales que ingieren roedores pueden ser la fuente de infección.

El fármaco de elección para tratar el «sodoku» es la penicilina, y también es activa la estreptomicina.

Campylobacter

Concepto y clasificación

En este género se integran bacilos gramnegativos, curvados en espiral, con una o más espiras, o en forma de «S». Se trata de bacterias finas, de 0,2 a 0,5 μm de anchura por 0,5 a 5 μm de longitud. Son no esporuladas y sí móviles, con un flagelo polar en uno o ambos extremos; la movilidad es semejante a la de un sacacorchos. Son microaerófilos y oxidasa-positivos. Se encuentran en el aparato reproductor, tubo gastrointestinal y cavidad oral de hombres y animales, a los que ocasionan acción patógena.

Este género ha sido objeto de amplia investigación en los últimos años y ha pasado de ser un género con cinco especies, descritas en el Manual de Bergey en 1984, a uno con trece, al menos reconocidas oficialmente en el momento presente. A la luz de estos estudios, se han producido cambios profundos en la nomenclatura. En la tabla 41-7 se muestra la relación de especies actualmente reconocidas, comparadas con la nomenclatura anteriormente en vigor.

Tabla 41-7. Especies del género Campylobacter

Nombre	Sinónimo
C. fetus subesp. *fetus*	*C. fetus* subesp. *intestinalis* *Vibrio fetus* var. *intestinalis*
C. fetus subesp. *venerealis*	*C. fetus* subesp. *fetus* *Vibrio fetus* var. *venerealis*
C. jejuni	*C. fetus* subesp. *jejuni* Vibrios relacionados *Vibrio jejuni*
C. coli	*C. fetus* subesp. *jejuni* *Vibrio coli*
C. sputorum subesp. *sputorum*	*C. sputorum* *Vibrio sputorum*
C. sputorum subesp. *bubulus*	*C. bubulus* *Vibrio sputorum* var. *bubulum* *V. bubulus*
C. mucosalis	*S. sputorum* subesp. *mucosalis*
C. concisus	
C. nitrofigilis	
C. laridis	
C. pyloridis	
C. hyointestinalis	
C. cryaerophila	
«*C. fecalis*»	
«*C. cinaedi*»	
«*C. fennelliae*»	
Especies «aerotolerantes» de *Campylobacter*	

Entre comillas nomenclatura no aprobada por el Comité Internacional de Bacteriología Sistemática.

De todas estas especies se han relacionado con el hombre: *C. fetus* subespecie *fetus*, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. laridis*, *C. pyloridis*, *C. cinaedi*, *C. fennelliae*, *C. sputorum* subespecie *sputorum* y *C. concisus*.

Clínicamente, la especie más importante en frecuencia es *C. jejuni*, que produce enterocolitis aguda. Cuadros semejantes son causados también por *C. coli* y *C. laridis*. *C. fetus* subespecie *fetus* produce septicemias en inmunodeprimidos. *C. pyloridis* asienta en la mucosa gástrica en pacientes con gastritis y úlcera pilórica. *C. cinaedi* y *C. fennelliae* se han relacionado con proctitis, proctocolitis y enteritis en hombres homosexuales. *C. sputorum* subespecie *sputorum* y *C. concisus* forman parte de la flora normal del surco gingival.

En los animales, *C. fetus* subespecie *fetus* provoca abortos en ovejas y vacas; *C. fetus* subespecie *veneralis*, aborto o infertilidad en bóvidos; *C. jejuni*, aborto en la oveja e infertilidad en la vaca; *C. coli* se ha encontrado en el tubo intestinal de cerdos y aves de corral; *C. sputorum* subespecies *bubulus* forma parte del tracto genital de ovejas y vacas; *C. mucosalis* es un agente de la adenomatosis intestinal de los cerdos; *C. nitrofigilis* es una bacteria fijadora de nitrógeno, asociada a las raíces de plantas de agua salada; *C. laridis* se aísla fundamentalmente en gaviotas, pero también se ha recuperado en otras aves y en mamíferos; *C. hyointestinalis* se ha encontrado en cerdos con enteritis proliferativa; *C. cryaerophila* se ha obtenido en el tracto genital y en fetos abortados de animales de granja, en sus heces y en leche de vaca con mastitis; *C. fecalis* en heces de ovejas y en diarreas de bóvidos y las especies «aerotolerantes» de *Campylobacter* se han relacionado con mastitis y abortos en vacas y abortos en cerdos.

Acción patógena

C. jejuni es la especie clínicamente más importante en la actualidad para el hombre. Produce preferentemente cuadros digestivos, en especial enteritis, pero también se ha encontrado ocasionando infecciones en otras localizaciones.

No se conocen en profundidad los determinantes de patogenicidad, así como la patogenia de los cuadros producidos por *C. jejuni*. Este microorganismo debe penetrar por vía oral, estimándose la dosis infectante en 10^5 UFC, a pesar de que 500 microorganismos ingeridos con leche pueden con-

ducir a las manifestaciones clínicas. No obstante, la ingestión de 10^4 UFC por voluntarios les ocasiona raramente alteraciones intestinales. Sin duda, la dosis infectiva estará condicionada por el alimento o líquido que lo vehicula, y por el fisiologismo gástrico del individuo.

La diarrea acuosa se debe probablemente a que *C. jejuni* produce una enterotoxina termolábil, semejante a la colérica, cuyo control genético es plasmídico. En *C. coli* también se ha demostrado que se produce una enterotoxina de este tipo. *C. jejuni* produce, además, una citotoxina.

La presencia de sangre y leucocitos en las heces diarreicas indican que *C. jejuni* tiene capacidad enteroinvasiva, aunque el test de Sereny es negativo, y hay afectación cólica. Esta se ha demostrado, además, por rectosigmoidoscopia.

La enteritis tiene un período de incubación de 2 a 5 días, aunque puede llegar a 10 u 11, y suele ser autolimitante. Existe un período prodrómico que dura de algunas horas a pocos días y se caracteriza por manifestaciones inespecíficas con malestar, dolor de cabeza, fiebre, anorexia, mialgias y artralgias, que aparecen en la mitad de los casos, fundamentalmente en los agudos.

El período diarreico o agudo se caracteriza por la aparición de una diarrea profusa, que se acompaña de dolor abdominal, malestar y fiebre. Las heces son líquidas o acuosas y a los 2 ó 3 días pueden contener sangre, fundamentalmente en adultos. Pueden existir vómitos, y en los niños la fiebre y el dolor suelen ser menos frecuentes.

En el período de recuperación puede haber deshidratación si la diarrea ha sido intensa y ésta desaparece en 2 ó 3 días, quedando el paciente debilitado. A veces queda un dolor abdominal persistente, que va desapareciendo.

El cuadro entérico puede manifestarse con otros componentes sindrómicos, si bien con más rareza. Pueden aparecer cuadros de dolor abdominal con o sin fiebre y sin diarrea, que recuerdan un cuadro de apendicitis aguda (pseudoapendicitis), enfermedad inflamatoria intestinal, adenitis mesentérica o perforación intestinal. En otras ocasiones se manifiesta como una colitis aguda y, en lactantes pequeños, como intususcepción, eliminando sangre por recto. A veces, la sintomatología se manifiesta tan sólo por fiebre.

Como complicaciones hay que citar ciertas manifestaciones que son consecuencia de una extensión local, como ocurre con colecistitis, colangitis, pancreatitis y peritonitis. En el curso de la infección puede surgir una bacteriemia, cuya incidencia no se conoce exactamente, y aparecer, aunque raramente, cuadros metastásicos; se han descrito meningitis, endocarditis, cistitis, abortos sépticos, artritis y osteítis. Por último, se ha señalado eritema nudoso, artritis reactiva, meningismo, síndrome de Reiter y síndrome de Guillain-Barré.

C. coli y *C. laridis* también producen enteritis, pero su implicación es mucho menos frecuente. Ocasionalmente se les ha aislado en otros procesos infecciosos.

A diferencia de las especies mencionadas anteriormente, *C. fetus* subespecie *fetus* habitualmente da lugar a infecciones extraintestinales en pacientes inmunosuprimidos o con enfermedades de base acompañantes (cirrosis, diabetes, neoplasias, leucosis, cardiopatías, etc.). El cuadro se manifiesta por una bacteriemia o septicemia en que la fiebre es un hecho constante. Como resultado de la bacteriemia puede haber afectación en distintos lugares, destacando las localizaciones cardiovasculares (con endocarditis y pericarditis), tromboflebitis, meningitis y meningoencefalitis, artritis y abortos.

Pueden surgir otros procesos supurados: peritonitis, absceso de pulmón, empiema, celulitis, infecciones del tracto urinario y colecistitis.

Por último, *C. fetus* subespecie *fetus* puede ocasionar gastroenteritis con sintomatología semejante a la producida por *C. jejuni*.

Diagnóstico

Las muestras habitualmente utilizadas en los procedimientos diagnósticos son las heces o hisopos rectales. Cuando se sospeche bacteriemia, se tomará sangre y las muestras adecuadas en infecciones localizadas.

Las heces pueden observarse al microscopio: en fresco, con fondo oscuro o contraste de fases, o bien en preparaciones teñidas. En fresco, se observa la movilidad del microorganismo debida al flagelo polar. La visión de abundantes leucocitos junto a bacilos gramnegativos pequeños y curvos sugiere la existencia de una enteritis por *Campylobacter*.

Las heces, que deben remitirse rápidamente al laboratorio, se siembran en medios selectivos, que se incuban en una atmósfera microaerófila a 42 °C. Se han desarrollado varios medios selectivos con antibióticos que inhiben otras bacterias acompañantes; los más utilizados son los de Skirrow (vancomicina, polimixina B, trimetoprim) y Butzler (bacitracina, novobiocina, actidiona, cefalotina y colistina) y el agar-sangre-Campy (vancomicina, trimetoprim, polimixina B, anfotericina B y cefalotina). Los medios que contienen cefalotina inhiben otras especies diferentes a *C. jejuni*, *C. coli* y *C. laridis*.

La incubación tiene lugar en atmósfera microaerófila, que contenga un 5 % de O_2 y un 10 % de CO_2, atmósfera que se consigue habitualmente con sobres generadores comerciales para utilizar en jarras para anaerobios. También se puede conseguir con una vela encendida hasta que desaparezca el oxígeno. Dada la termofilia de estas bacterias, las placas se deben incubar a 42 °C. Cuando se pretenda aislar *C. fetus* subespecie *fetus*, *C. pyloridis*, *C. cinaedi* y *C. fenneliae*, que no son termofílicos, las placas se incubarán a 36 °C.

Las especies que ocasionan bacteriemias crecen bien en los diversos tipos de medios para hemocultivos comerciales, pero pueden requerir 15 días de incubación. Los subcultivos hay que llevarlos a cabo en placas que se incuban en atmósfera microaerófila.

La identificación se basa en la comprobación de la morfología por la tinción de Gram y verificación de las pruebas de oxidasa, catalasa, etc. Las cepas aisladas pueden biotiparse y serotiparse.

Epidemiología

Las campilobacteriosis constituyen una zoonosis de distribución mundial, que afecta con mayor incidencia los países en vías de desarrollo. Estas bacterias parece que constituyen la principal causa de gastroenteritis en el hombre por bacterias, por delante incluso de salmonelas y shigelas.

La fuente de infección está constituida fundamentalmente por los animales. *C. jejuni* constituye parte de la flora del tubo intestinal de vacas, ovejas, cerdos, caprinos, perros, ga-

tos, roedores y todo tipo de aves. *C. coli* se aísla con más frecuencia de cerdos.

Estas dos especies, por su termofilia, están muy bien adaptadas a las aves. *C. fetus* subespecie *fetus* se aísla fundamentalmente de ovinos y caprinos. El hombre puede actuar como portador, particularmente en los países desarrollados.

La transmisión se realiza de manera principal por la ingestión de alimentos o de agua contaminada a partir de heces de animales, pero también por manipuladores portadores. Tienen particular interés la leche no higienizada y las carnes, y puede haber contagio directo por contacto con animales y también interhumano por vía fecal u oral. La madre transmite el microorganismo al feto y recién nacido, por vía placentaria o vaginal.

En los países desarrollados, la enfermedad surge habitualmente en el primer año de vida y también en gente joven comprendida entre los 10 y los 30 años de edad, en tanto que en los países en vías de desarrollo aparece a lo largo de los primeros 5 años de vida.

Tratamiento

Las distintas especies de *Campylobacter* son sensibles a aminoglicósidos, macrólidos, tetraciclina, cloranfenicol y clindamicina. Suele haber resistencias a ampicilina, cefalosporinas de primera y segunda generación, y polimixina B.

Las diarreas suelen curar de forma espontánea y en caso necesario se tratarán por vía intravenosa u oral dependiendo de la gravedad. Opcionalmente se administrará eritromicina. El fármaco de elección para las formas extraintestinales es la gentamicina, y en las infecciones del sistema nervioso central se asocia el cloranfenicol.

BIBLIOGRAFIA

Blake, P. A.; Weaver, R. E., y Hollis, D. G.: Diseases of humans (others than cholera) caused by vibrios. Ann. Rev. Microbiol., 34, 341-367, 1980.

Butzler, J. P.: *Campylobacter*. En Gorbach, S. L. (dir.): Infectious Diarrhea, 51-63. Blackwell, Boston, 1986.

Carpenter, C. C. J.: Other patogenic vibrios. En Mandell, G. L.; Douglas, Jr., R. G., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed., 1218-1221. Wiley, New York, 1985.

Farmer III, J. J.; Hickman-Brenner, F. W., y Kelly, M. T.: *Vibrio*. En Lennette, E. H.; Ballows, A.; Hausler, Jr., W. J., y Shadomy, H. J. (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed., 282-301. American Society for Microbiology, Washington, 1985.

Graevenitz, A.: *Aeromonas* and *Plesiomonas*, En Lennette, E. H.; Ballows, A.; Hausler, Jr., W. J., y Shadomy, H. J. (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed., 278-281. American Society for Microbiology, Washington, 1985.

Krieg, N. R., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

López-Brea, M., y Jiménez, M. L.: *Campylobacter*, Rev. Esp. Microbiol. Clin., 1; 23-30, 1986.

Marshall, B. J.: *Campylobacter pyloridis* and gastritis. J. Infect. Dis., 153, 650-657, 1986.

Morris, Jr., J. G.: *Vibrio* and *Aeromonas*. En Gorbach, S. L. (dir.): Infectious Diarrhea, 101-123, Blackwell, Boston, 1986.

Morris, G. K., y Patlon, C. M.: *Campylobacter*. En Lennette, E. H.; Ballows, A.; Hausler, Jr., W. J., y Shadomy, H. J. (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed., 302-309. American Society for Microbiology, Washington, 1985.

Rogosa, M.: *Streptobacillus moniliformis* and *Spirillum minus*. En Lennette, E. H.; Ballows, A.; Hausler, Jr., W. J., y Shadomy, H. J. (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed., 400-406. American Society for Microbiology. Washington, 1985.

Capítulo 42

Pasteurella, Francisella, Legionella y otros bacilos gramnegativos anaerobios facultativos

José Angel García-Rodríguez

Pasteurella

El género *Pasteurella* está formado por un grupo heterogéneo de bacterias patógenas para los animales, pero capaces de producir en el hombre una gran variedad de cuadros clínicos que van desde abscesos locales a estados de septicemia y endocarditis.

Comprende seis especies reconocidas: *P. multocida*, especie de tipo aislada por Revolee, en 1887; *P. haemolytica*, aislada de procesos neumónicos, en 1932; *P. pneumotropica*, descrita, en 1950, por Yawetz; *P. ureae*, reconocida por Henriksen y Jyssum, en 1960, como una variante de *P. haemolytica*; *P. aerogenes*, propuesta por McAllister y Carter, en 1977, y *P. gallinarum*.

ACCION PATOGENA

Patogenia

Se conocen pocos datos acerca de los factores de patogenicidad de estas especies. La pared de *P. multocida* y *P. haemolytica* posee actividad endotóxica. En ninguna especie se ha comprobado la existencia de exotoxinas.

Un componente importante, al menos en *P. multocida*, es la cápsula. Las cepas capsuladas (cepas mucosas y lisas) son las más patógenas para el ratón. No obstante, deben existir otros factores, aún no caracterizados, de importancia en la patogénesis. Así, se ha comprobado que la virulencia de *P. multocida* se exalta cuando existe hierro libre (en forma de citrato amónico-férrico, hematina, eritrocitos lisados o hemoglobina purificada).

La patogénesis de los procesos causados por todas las especies es muy parecida, pero sólo se conocen con cierta claridad los mecanismos patogénicos en *P. multocida*.

La llegada de la bacteria al foco de infección se produce a través de una infección local de piel y tejidos blandos y a veces posterior linfadenitis regional, osteomielitis y tenosinovitis, o en otras ocasiones como consecuencia de una sobreinfección pulmonar en enfermedades crónicas, y aparecen cuadros de neumonía, bronquitis, bronquiectasias y empiema.

Por uno u otro mecanismo, *P. multocida* puede pasar a la sangre y originar bacteriemias y a veces lesiones metastásicas en otros órganos (absceso cerebral, artritis supurada, meningitis, encefalitis, otitis, sinusitis, etc.).

Manifestaciones clínicas

El cuadro más frecuente producido por *P. multocida* es la infección de la piel y tejidos blandos, en heridas originadas por la mordedura de animales. Fundamentalmente, las heridas que han sido suturadas son las más peligrosas.

La infección puede progresar desde la puerta de entrada y ser favorecida por el traumatismo local que normalmente existe. Aparece pioartrosis, sinovitis necrotizante y osteomielitis. La linfadenitis regional, normalmente, acompaña este tipo de infecciones. Se han señalado cuadros septicémicos en personas sanas, pero acontecen sobre todo en personas con afecciones del SRE (cirrosis, artritis reumatoide, etcétera).

El segundo cuadro más frecuente es la afectación pulmonar, en personas con enfermedades pulmonares crónicas. El resto de los procesos ya ha sido comentado al tratar de la patogenia, y destacan por su gravedad las infecciones sistémicas, como septicemias y meningitis.

Se han descrito menos cuadros clínicos producidos por las otras especies. *P. haemolytica* es responsable de infección de heridas y endocarditis; *P. aerogenes* se ha aislado de heridas por mordedura, otros tipos de heridas, orina y líquido pleural. *P. pneumotropica* y *P. ureae*, además de heridas, neumonías y septicemias, pueden originar sinusitis y meningitis. En general resulta clínicamente imposible de distinguir los procesos originados por todas estas especies de los producidos por *P. multocida*.

DIAGNOSTICO

Es un diagnóstico de tipo directo. El indirecto mediante la reacción de hemaglutinación sólo tendrá interés en infecciones sistémicas por *P. multocida*.

Tabla 42-1. Características bioquímicas del género Pasteurella

	P. multocida	*P. pneumotropica*	*P. ureae*	*P. haemolytica*	*P. aerogenes*
Hemólisis	–	–	–	–	–
Crecimiento en MacConkey	–	V	–	V	+
Indol	+	+	–	–	–
Ureasa	–	+	+	–	+
Manitol	V	–	+	V	–
Catalasa	+	+	V	V	+
Oxidasa	+	+	+	+	+
Ornitín-descarboxilasa	+	+	–	–	V

Modificado de Weaver y Hollis (1980).
V: Variable según los biotipos.

Las muestras que pueden emplearse para el diagnóstico microbiológico son esputo, sangre, tejidos, material purulento y líquido cefalorraquídeo.

Aislamiento

Los cultivos deben contener sangre o hematina, y sólo *P. haemolytica* crece en medios con sales biliares (agar-MacConkey). Son anaerobios facultativos, y aunque pueden desarrollarse a temperaturas entre 25 y 40 °C, la temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C.

Las colonias son de cuatro tipos: mucosas, lisas, iridiscentes, lisas no iridiscentes y rugosas, y existe correlación entre aspecto (descrito antes), reacción acriflavínica y hemaglutinación. Las cepas rugosas y las lisas no iridiscentes, que carecen de material capsular o tienen poco, floculan con la acriflavina y no son hemaglutinantes. Las cepas que permanecen suspendidas en acriflavina contienen un material capsular, que es tipable por hemaglutinación indirecta, y corresponden a las formas mucoides y lisas iridiscentes. *P. multocida* no es hemolítica, pero decolora los medios con sangre.

Identificación

Para la identificación se recurre al estudio tintorial, bioquímico (tabla 42-1) y serológico.

La tinción de Gram revela la presencia de pequeños organismos gramnegativos, con coloración bipolar, de 14 × 0,4 µm.

Existen cuatro serotipos de *P. multocida* (A, B, D y E), obtenidos sobre la base de su antígeno capsular. Cada uno de éstos puede subdividirse sobre la base del antígeno somático (antígeno O) del que se han identificado 16 antígenos específicos. Asimismo, se han separado 5 biovar. Doce serotipos (1-12) y dos biovar (A y T) de *P. haemolytica*, y tres biovar de *P. pneumotropica* se han descrito igualmente. El tipo A de *P. multocida* es el que más se aísla de cuadros pulmonares.

TRATAMIENTO

El antibiótico de elección es la penicilina. Las tetraciclinas también son eficaces. El tratamiento ha de durar 7-10 días, y si existen colecciones purulentas, se procederá a su drenaje. En los casos de septicemia, el tratamiento será hospitalario, a base de penicilina o cefalosporinas.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Las especies del género *Pasteurella* forman parte de la flora normal del aparato respiratorio de una gran variedad de animales, que por orden de frecuencia son gato, perro, roedores, ovinos, suidos y bóvidos. Estos animales en ocasiones padecen cuadros asintomáticos, aunque *P. multocida* origina a veces brotes de cólera y septicemias hemorrágicas manifiestas.

Sobreviven mal en el suelo y agua, y son transmitidas al hombre fundamentalmente por contacto directo, sobre todo por mordedura de los animales colonizados. Aunque se han usado vacunas en los animales, en tanto no se conozca mejor la estructura antigénica de estas bacterias, no se dispondrá de inmunización activa eficaz.

Francisella

La única especie patógena para el hombre de este grupo de microorganismos es *F. tularensis*, aislada, en 1912, en Tulare-County (California) por McCoy y Chapin a partir de roedores y por Wherry y Lam, en 1914, en el hombre. Es el agente etiológico de la afección denominada tularemia, enfermedad que cursa con fiebre alta y afectación general importante, que puede durar semanas o meses, si no se trata de forma adecuada.

ACCION PATOGENA

Patogenia

Además de su capacidad de sobrevivir intracelularmente, existen pocos factores definidos de patogénesis. El estudio antigénico de las cepas aisladas ha demostrado la existencia de tres componentes.

1. Antígeno proteico, responsable de las reacciones cruzadas que se observan con el género *Brucella* y de la reacción de hipersensibilidad retardada que presentan las personas que padecieron esta enfermedad.
2. Antígeno de pared, o endotoxina, que tiene una actividad biológica similar a la de las endotoxinas de otras bacterias gramnegativas y contiene los antígenos inmunizantes. Sería un complejo con actividad similar a la endotoxina de *S. typhi.*
3. Antígeno polisacárido, responsable de fenómenos de hipersensibilidad inmediata.

No existen otros factores de virulencia conocidos y tampoco se han identificado exotoxinas.

Las puertas de entrada de la infección pueden ser:

1. Piel. *F. tularensis* puede penetrar incluso a través de piel sana, pero lo normal es que sea inoculada por picadura de garrapatas o por contaminación de la herida de la picadura por las heces.
2. Vías respiratorias, por inhalación.
3. Tubo digestivo, por ingestión.
4. Conjuntiva, por dedos contaminados o aerosoles.

Manifestaciones clínicas

Existen varias formas clínicas:

Ulcero-glandular

Se presenta en el 70-80 % de los casos. Corresponde a las formas de inoculación a través de la piel. Después de un período de incubación de 3-5 días, aparece una pápula que después se ulcera. Va acompañada de fiebre y adenopatía y a veces linfoadenitis. Como las bacterias sobreviven en SRE, pueden surgir bacteriemia y focos de necrosis en múltiples órganos, rodeados de células epiteliales y linfocitos, e incluso granulomas con caseificación, con o sin células gigantes.

Glandular

Se presenta en el 5-10 % de los casos. Es similar a la anterior, pero sin ulceración.

Tifódica

Aparece en el 5-15 % de los casos. Tiene una clínica similar a la fiebre tifoidea. Este cuadro se presenta tanto en las inoculaciones cutáneas como en las infecciones por vías respiratorias o digestiva.

Oculoglandular

Se manifiesta en forma de conjuntivitis purulenta unilateral, con adenopatías cervicales o preauriculares, y surge en el 1-2 % de los casos.

Orofaríngea

Es poco frecuente. Se trata de una faringoamigdalitis aguda o membranosa con fiebre y adenopatía cervical.

Pulmonar

Aparece por inhalación de *F. tularensis*, pero también en las formas ulceroglandulares y tifódicas. Se manifiesta con fiebre, neumonía lobar, tos y adenopatía mediastínica.

A veces, en el transcurso de alguna de las formas mencionadas aparece un rash cutáneo de tipo maculoso, maculopapular o pustuloso. Las pericarditis, peritonitis, meningitis y osteomielitis son raras.

DIAGNOSTICO

Directo

Las tinciones directas del producto patológico no suelen dar resultado, pero sí lo da la fluorescencia directa. No crece en medios de cultivo ordinarios. Lo hace en agar-sangre con glucosa y cisteína o cistina y caldo-tioglicolato a 37 °C, en aerobiosis. A las 24-48 horas, las colonias son pequeñas, lisas y opacas.

Puede recurrirse al empleo de penicilina, polimixina B o cicloheximida. Se ha señalado que el medio de Thayer-Martin puede ser adecuado.

La identificación se realiza por sus características morfológicas (cocobacilo gramnegativo, de 0,5 × 0,2 µm, con tendencia al pleomorfismo), propiedades biológicas (inmóvil, catalasa-negativo, fermentación de glucosa, maltosa y manosa, producción de SH_2 en medios con cisteína) y técnicas de inmunofluorescencia o de aglutinación frente a sueros específicos.

Sólo existe un tipo serológico, pero puede dividirse en dos variedades:

1. Variedad A *(F. tularensis* var. *tularensis* [neártica]). Aislada de roedores y artrópodos; muy virulenta para el ratón y para el hombre. Utiliza el glicerol y es citrulín-ureidasa-positiva.
2. Variedad B *(F. tularensis* var. *palearcitica).* Aislada del agua y animales marinos. Poco virulenta para el ratón y el hombre. No utiliza el glicerol y es citrulín-ureidasa-negativa.

Aunque puede recurrirse a la inoculación de animales de experimentación, dado el riesgo de contagio para el personal de laboratorio, este procedimiento diagnóstico no se emplea.

Serológico

Mediante la reacción de aglutinación, se diagnostican la mayor parte de los casos. Los anticuerpos aparecen al cabo de 1 semana, y se encuentran títulos positivos en el 50-70 % de los pacientes, a las 2 semanas. Son significativos los títulos de 1/80 ó 1/160 o el aumento, al menos cuatro veces, de un título cuando se realizan dos extracciones de suero separadas por un intervalo de tiempo de 2 semanas aproximadamente.

Los sueros que aglutinan a la vez con *F. tularensis* y *Brucella* deben ser sometidos a un proceso de absorción de aglutininas.

Test cutáneo

Está basado en que *F. tularensis* es un parásito intracelular facultativo del SRE y productor de un estado de inmunidad mediada por células. Este estado reactivo aparece desde el comienzo de la enfermedad y persiste años después de la infección o vacunación.

TRATAMIENTO

El antibiótico de elección es la estreptomicina, administrada durante 7-10 días. Cloranfenicol y tetraciclinas son los fármacos alternativos, aunque con frecuencia se observan recidivas porque no consiguen erradicar los depósitos subcutáneos de *F. tularensis*. La penicilina es ineficaz.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

El reservorio es múltiple: animales domésticos, aves, roedores, anfibios, insectos, etc. Los más importantes son los conejos, liebres y garrapatas. También se ha aislado del suelo.

El hombre se contagia fundamentalmente por contacto con tejidos o sangre de los animales infectados, picadura de artrópodos vectores o mordedura. Menos frecuente es el contagio aéreo o por ingestión de carne de animales infectados.

La enfermedad se localiza entre los 30 y 71° de latitud norte. Se presenta en brotes esporádicos y afecta a todas las razas y todas las edades, pero principalmente a adultos.

Las medidas preventivas incluyen: educación sanitaria, protección pasiva al manipular animales, lucha contra los artrópodos, empleo de ahuyentadores y vacunación.

Existen vacunas atenuadas que, administradas por escarificación, confieren una protección parcial. Sólo deben emplearse en personas que por su ocupación presenten alto riesgo de contraer la enfermedad.

Legionella

Es un género bacteriano relativamente nuevo, pues los primeros conocimientos importantes sobre él se sitúan en julio de 1976, fecha en que tuvo lugar en Filadelfia (EE.UU.) la 58.ª Convención de la Legión Americana. A los pocos días de la reunión, aparecieron 182 casos de neumonía, 29 mortales, que en su mayoría correspondieron a asistentes a la citada convención. Este cuadro clínico se denominó «enfermedad de los legionarios».

Este brote fue similar en muchos aspectos a otros dos ocurridos años antes, uno en 1965 en el distrito de Columbia y otro en 1968 en Pontiac (Michigan), en los que, a pesar de los estudios que se han realizado, no se ha podido averiguar la causa.

En el brote de Filadelfia, no todos los casos aparecieron en legionarios, sino que hubo otras personas no asistentes a la convención que padecieron un proceso respiratorio similar, que se llamó «neumonía de Broad Street». De algunos enfermos se conservaron sueros que analizados 7 meses más tarde mostraron en cuatro de ellos anticuerpos frente a *Legionella pneumophila*, agente etiológico descubierto posteriormente. Desde entonces se han descrito múltiples casos en todo el mundo, y se ha aislado el agente etiológico en Europa, América y Australia.

Posteriormente se han descrito otros agentes similares, para los que se han creado el género *Legionella* y la familia *Legionellaceae*, en los que en la actualidad se incluyen más de veinte especies por estudios del ADN. Entre ellas se encuentran: *L. pneumophila*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii*, *L. micdadei*, *L. longbeachae*, *L. gormanii*, *L. jordanis* y *L. pittsburghensis*, etc.

De las especies antes citadas, *L. pneumophila* tiene un poder patógeno comprobado. De las restantes se poseen menos datos, pero los existentes hacen suponer que la mayor parte de ellas poseen una patogenicidad similar a *L. pneumophila*. Las afecciones que producen reciben genéricamente el nombre de legionelosis.

L. pneumophila

Es un bacilo o cocobacilo gramnegativo, aunque difícil de demostrar por el método de Gram en los productos patológicos. A veces es filamentoso, catalasa y oxidasa-positivo, aerobio estricto e incapaz de crecer en medios comunes.

Posee varios antígenos en base a los cuales se diferencian al menos 8 serogrupos. El antígeno del serogrupo 1 es un complejo lípido-proteico-polisacárido que parece estar localizado en la superficie y protege de la fagocitosis. Se han preparado anticuerpos monoclonales para diferenciar las cepas del serogrupo 1 con fines de rastreo epidemiológico.

DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD Y PATOGENESIS

Se conoce poco aún acerca de los determinantes de patogenicidad y patogénesis. *L. pneumophila* posee una endotoxina diferente de las endotoxinas clásicas, ya que las pruebas *in vivo* indican que es pirógena y de toxicidad débil. Produce una exotoxina (citotoxina termoestable) no bien caracterizada, que lesiona las membranas celulares y provoca una rotura del epitelio alveolar, con posterior formación de membranas hialinas en el parénquima pulmonar. Se ha des-

crito también la existencia de una hemolisina termoestable, varias proteasas, β-lactamasas, fosfatasas, lipasas y deoxirribonucleasas. Por ser parásito intracelular, estaría protegido de fagocitos y antimicrobianos.

No se conoce otra vía de infección distinta a la respiratoria.

La respuesta a la infección es humoral y celular, pero esta última es más importante, lo que explica que las vacunas que estimulan la inmunidad humoral no protejan al animal de experimentación.

MANIFESTACIONES CLINICAS

Todas las especies son potencialmente patógenas para el hombre. El término legionelosis se emplea para referir todas las infecciones causadas por bacterias del género. La neumonía producida por *L. pneumophila* se recoge como enfermedad de los legionarios y la neumonía por *L. micdadei*, como **neumonía de Pittsburgh.** *L. pneumophila* puede también ocasionar cuadros más leves, no neumónicos, que reciben el nombre de **fiebre de Pontiac.**

El cuadro clínico más frecuente producido por *L. pneumophila* es el que se refiere como **enfermedad de los legionarios.** Se trata de una neumonía, si bien en el transcurso de ella existen manifestaciones extrapulmonares.

Neumonía

El período de incubación, que oscila entre 2 y 10 días, va seguido de una neumonía atípica, con fiebre alta, malestar general, debilidad y sensación grave de enfermedad. La anorexia, tos (inicialmente no productiva), dolor pleural y diarrea son también síntomas frecuentes. Casi todos los pacientes presentan fiebre, cuya media es de 39 °C. La radiografía de tórax sugiere una neumonía atípica y el laboratorio muestra leucocitosis, hiponatremia, hipofosfatemia y alteraciones en las pruebas funcionales hepáticas.

A veces, los primeros síntomas son diarrea, dolor muscular y ligera cefalea.

La mayor parte de los enfermos presentan leucocitosis, con cifras aproximadas de 10.000 leucocitos por mm^3, y, en un 5 % de los casos, formas en banda, lo que constituye un signo de mal pronóstico. La velocidad de sedimentación globular y la cifra de transaminasas están aumentadas.

La enfermedad suele durar 10 días cuando cura, y si el pronóstico empeora, aparece confusión mental y fracaso respiratorio y renal.

El pronóstico es más severo en ancianos y personas con enfermedades crónicas o infecciones pulmonares previas, y son frecuentes la cavitación, formación de abscesos y neumotórax.

Manifestaciones extrapulmonares

Son bastante frecuentes. Las más importantes son las del sistema nervioso central (alucinaciones, pérdida de memoria, ataxia, disfunción cerebelosa, neuropatía periférica e hiperreflexia), náuseas, vómitos, diarrea, hepatomegalia e ictericia, proteinuria y hematuria, coagulación intravascular y a veces anemia, trombocitopenia e incluso leucopenia.

En cuanto a la mortalidad, las cifras generalmente oscilan entre 0 % en el brote de Pontiac (cursó sin neumonía) y 16 % en el de Filadelfia.

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Ante un cuadro de neumonía atípica, con hemocultivo y cultivo de esputo rutinario negativo, quebrantamiento general, infiltrados radiológicos pulmonares y leucocitosis con neutrofilia, debemos considerar esta enfermedad que puede simular otros varios procesos: psitacosis, fiebre Q, tularemia, infecciones por micoplasma, gripe, peste e infecciones víricas inespecíficas.

Las características clínicas y epidemiológicas coinciden con varias zoonosis, incluida la psitacosis. En el estudio histopatológico, los hallazgos son muy similares en ambas enfermedades. Además, el estudio de anticuerpos sugiere relaciones antigénicas entre ambos microorganismos. El diagnóstico diferencial tiene importancia no sólo académica, sino práctica, dado que la tetraciclina que es eficaz en psitacosis prácticamente no lo es en *L. pneumophila*, y la eritromicina, muy útil en legionelosis, no sirve para luchar contra la psitacosis.

Por tanto, el estudio diferencial epidemiológico, clínico y de laboratorio debe realizarse con detenimiento, ya que un diagnóstico temprano permite elegir el antibiótico adecuado.

DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

Directo

Recogida y transporte

Son muestras válidas para la investigación de *Legionella* los tejidos del aparato respiratorio, aspirado transtraqueal, biopsia pulmonar, lavado bronquial y sangre. Para la recogida y transporte de las muestras puede emplearse el medio semiselectivo de Edelstein y Finegold (*Charcoal yeast extract*, con vancomicina y polimixina B).

La siembra ha de efectuarse antes de las 2 horas de la toma de la muestra, o si se realiza después, deberá haberse mantenido en el refrigerador.

Técnicas rápidas:

L. pneumophila aparece en los exudados junto a polinucleares y macrófagos con forma cocácea, cocobacilar o aspecto semejante a esporos. En las muestras patológicas se comporta de forma irregular frente al método de Gram, pues, si bien es gramnegativa, es difícil de mostrar el microorganismo con esta técnica. Por ello se han empleado otros tipos de tinciones (azul de toluidina, impregnación argéntica, tinción de Giménez, etc.). La tinción de Giménez puede ser útil en cortes histológicos y la impregnación argéntica, por el método de Dieterle, es la recomendada para el estudio de secciones parafinadas.

No obstante, estas tinciones son inespecíficas y necesitan ser confirmadas por inmunofluorescencia o cultivos. Pero en ausencia de otros bacilos demostrables por la tinción de Gram, la visualización de formas bacilares típicas en un pa-

ciente que posea un cuadro clínico sospechoso es una prueba presuntiva de diagnóstico.

Sin duda, la mejor técnica para la observación de muestras clínicas es la inmunofluorescencia directa, aunque tiene el inconveniente de que, a medida que se van aislando nuevas cepas, aparecerán nuevos serogrupos.

La inmunofluorescencia directa, utilizando antisuero de conejo monovalente o polivalente, puede realizarse sobre muestras de esputo, aspirados, lavados bronquiales, líquido pleural o tejido pulmonar. La prueba se considera positiva si se observan más de 25 bacterias fluorescentes en las muestras tisulares o más de 5 en otros tipos de especímenes. La especificidad es del 90-95 %.

La detección del antígeno soluble del serogrupo 1 es un método rápido que a veces proporciona buenos resultados. Este antígeno puede buscarse en orina por RIA, ELISA, aglutinación con látex y contrainmunoelectroforesis. Por último, como método rápido y de gran porvenir, se encuentra el empleo de las sondas de ADN.

Aislamientos y cultivos

Se han buscado medios líquidos bien definidos químicamente. Warren y Miller han obtenido un medio líquido que contiene 21 aminoácidos y sales inorgánicas. En este medio, a 36 °C de temperatura y con agitación continua, se produce un pigmento soluble de color pardo, que se observa al final de la fase exponencial y al principio de la estacionaria. Morfológicamente, *L. pneumophila* crece en este medio con gran filamentación y numerosos gránulos lipídicos intracelulares. La L-serina, L-tionina y L-cisteína son necesarias para un crecimiento óptimo.

La L-cisteína puede ser sustituida por L-cisteína oxidada o glutatión reducido, pero no por D-cisteína, tiomalato, tioglicolato ó 2-mercaptoetanol. Los iones hierro son necesarios para el crecimiento óptimo, pero la presencia de hierro suplementario no es un requerimiento esencial para el desarrollo. No se desarrolla en medios comunes ni en agar-sangre, pero sí en caldo-tioglicolato.

También se conocen las diferentes condiciones de cultivo: tensión O_2, temperatura y pH. La temperatura óptima es la de 35 °C, la tensión de CO_2, de 2,5-5 % y el pH, de 6,9. No crece a 25 ni 42 °C, y el desarrollo es muy pobre a 30 °C y es aerobio estricto.

Los medios de cultivo recomendados son charcoal yeast extract-agar (CYE-agar) o el buffered CYE-agar (BCYE-agar), a ser posible, con alfa-citoglutárico (BCYE-alfa-agar). Aunque no es una muestra muy apropiada, *L. pneumophila* puede aislarse a partir del esputo si se emplean medios selectivos. Los que mejores resultados proporcionan son el medio BMPA-alfa (que es el medio BCYE-alfa con polimixina B, anisomicina y cefamandol) y el medio PVA (BCYE con polimixina B, anisomicina y vancomicina). En estos medios, a los 3-5 días aparecen las colonias, que son pequeñas, a veces puntiformes, convexas con aspecto de vidrio tallado y de color grisáceo o azul pálido. El hemocultivo conviene realizarlo en un medio CYE bifásico.

Como método de aislamiento, también puede recurrirse a la inoculación experimental. La inoculación del cobayo con tejido pulmonar provoca a los 4-6 días la muerte de los animales inoculados, y se observan numerosos bacilos en el exudado peritoneal, y especialmente en el hígado y bazo. Las suspensiones de estos órganos pueden inocularse en huevos embrionados, donde causarán la muerte de los embriones en 4 ó 7 días. Mediante tinción por alguno de los métodos antes citados se revela la existencia de bacilos de 0,3-0,4 µm de anchura y 2-3 µm de longitud, y se observan también algunos bacilos de 8-10 µm de longitud e incluso formaciones de 50 µm. Estos elementos, que no toman la tinción de Gram o son gramnegativos, al microscopio electrónico tienen la estructura típica de las bacterias gramnegativas.

Identificación

La identificación se basa en sus características morfológicas, nulo crecimiento en agar-sangre, estudio de la pigmentación, flagelos y propiedades bioquímicas.

Mediante tinción, *L. pneumophila* aparece en los medios de cultivo como un bacilo gramnegativo de 2-3 µm de longitud por 0,5-0,7 µm de anchura, y se observan a menudo formas filamentosas de 20 µm o más.

Este microorganismo es catalasa-positivo y oxidasa-positivo débil. No reduce los nitratos y a veces produce una fluorescencia amarilla. No fermenta ningún carbohidrato conocido y, como es aerobio estricto, la utilización de los carbohidratos se realiza a través de la vía oxidativa.

La producción de un pigmento marrón soluble es bastante característico de las cepas de *L. pneumophila*. Aparece en la fase estacionaria como un metabolito secundario, al igual que la fluoresceína y piocianina de *Pseudomonas aeruginosa*.

La identificación se completa por inmunofluorescencia directa, ELISA, hibridación del ADN y cromatografía gaseosa. En la tabla 42-2 se recogen las características diferenciales de algunas especies del género.

Los análisis cromatográficos han demostrado que las legionelas tienen un perfil característico de ácidos grasos de cadenas ramificadas. El perfil de ácidos grasos de cada cepa es esencialmente idéntico en cada medio y se caracteriza por una cantidad superior al 68 % de cadenas de ácidos ramificados. En esto se diferencian de otras bacterias gramnegativas.

Indirecto

La inmunofluorescencia y hemaglutinación indirectas proporcionan resultados satisfactorios. La primera es la más empleada, y se consideran positivas las seroconversiones con título de 1/128, los títulos superiores a 1/256 o cuando se comprueba un aumento de cuatro veces entre dos tomas de suero separadas por 15 días. La reacción ELISA puede emplearse para la investigación de anticuerpos, pero se dispone de menos datos sobre su eficacia.

Existen reacciones serológicas cruzadas con peste, tularemia y leptospirosis, que han dado lugar a casos incorrectamente diagnosticados. Se considera que esto es debido a reacciones antigénicas cruzadas, si bien no se ha comprobado que *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis* y *Leptospira interrogans* presenten reacción cruzada con *L. pneumophila* en pocillos de titulación con suero hiperinmune. Sí se ha probado en el caso de *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* y *Pseudomonas pseudomallei*.

Los anticuerpos se detectan a partir de la segunda semana y aumentan hasta cuatro veces entre las 3 semanas y los

Tabla 42-2. Características de algunas especies del género Legionella

Características	*L. pneumophila*	*L. gormanii*	*L. bozemanii*	*L. dumoffii*	*L. micdadei*	*L. longbeachae*
Crecimiento en						
CYE-agar	+	+	+	+	+	+
FG-agar	+	–	+	+	+	?
Fluorescencia	Amarilloverdosa	Blancoazulada	Blancoazulada	Blancoazulada	Amarilloverdosa	Amarilloverdosa
Pigmentación oscura en FG-agar	+	NC	+	+	–	+
Flagelos	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	–	–	–	+	+
Gelatinasa	+	+	+	+	+	+
β-Lactamasas	+	+	+	+	–	+
Eritromicina (CMI, μg/ml)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Hidrólisis del almidón	+	ND	+	+	+	?
Hidrólisis del hipurato	+	–	–	–	–	–

NC, no crecimiento; ND, no determinado.

2 meses del comienzo de la enfermedad, razón por la que se aconseja hacer el estudio de dos tomas de suero.

Como los títulos son más altos frente a la cepa homóloga, hay que tener presente el antígeno que se utiliza. De ahí que sea muy importante llegar a aislar en todos los casos la cepa responsable, para preparar antígeno de todos los serogrupos.

Por último, queremos señalar que se ha demostrado que los linfocitos sufren la transformación blástica frente a antígenos de *L. pneumophila*.

TRATAMIENTO

El antibiótico de elección es la eritromicina. La mayor parte de los pacientes tratados con otros antibióticos distintos de la eritromicina empeoran. Los antimicrobianos utilizados que no han mostrado eficacia son ampicilina, penicilina, carbenicilina, oxacilina, cefalotina, cefalexina, cefoxitina, cefazolina, amikacina, gentamicina y clindamicina.

La bacteria produce una β-lactamasa que es más activa sobre cefalosporinas que sobre penicilinas.

La rifampicina es también un antibiótico válido, aunque no parece ser más eficaz que la eritromicina. Ambos pueden asociarse, sobre todo cuando los enfermos no responden a la eritromicina sola o como parte de una prueba de control antibiótico en casos sospechosos.

Como la rifampicina es un potente inductor de enzimas hepáticas y estas enzimas contribuyen a eliminar la eritromicina, algunos recomiendan la asociación de eritromicina con tetraciclinas, asociación que cubre también un espectro importante de cuadros parecidos a la legionelosis.

Es conveniente insistir en la poca correlación de los resultados habidos *in vitro* e *in vivo*, ya que los aminoglicósidos son activos *in vitro*, pero parecen ser ineficaces *in vivo*.

En cuanto a las tetraciclinas solas, sin asociación a eritromicina, existen datos, fundamentalmente en animales, que indican una aceptable respuesta a minociclina y doxiciclina.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Reservorio

No se conoce dónde permanece la bacteria durante los estadios interepidémicos.

Las investigaciones en pájaros y roedores y otros animales han sido negativas.

Mecanismo de transmisión

Hay varios posibles:

1. Directo de persona enferma a persona sana: parece poco probable, dadas las características de los brotes y casos que se han descrito.
2. Transmisión por vía digestiva: no existe relación alguna entre enfermedad y consumo de determinados alimentos o agua, aunque se ha aislado de la red de distribución de agua potable.
3. Transmisión por el aire: la hipótesis de transmisión aérea, difícil de demostrar, es asimismo consistente si se tienen en cuenta los hechos epidemiológicos que se han señalado en los casos publicados.

L. pneumophila se ha aislado de ríos, lagos, conducciones de agua potable, duchas, grifos, sistemas de aire acondicionado, etc. La penetración por vía respiratoria se producirá principalmente por aerosoles procedentes del agua contaminada, humidificadores y sistemas de aire acondicionado.

Factores epidemiológicos secundarios

Entre éstos merecen destacarse:

Edad

Si bien la afección puede aparecer en todo tipo de personas (el mayor número de casos se presentan entre 5 y 80 años), el 75 % de los observados quedan comprendidos entre los 40 y 69 años.

Sexo

La enfermedad afecta más al varón que a la hembra, lo cual puede explicarse por la peor salud de los varones en relación con las mujeres y la mayor competitividad profesional del varón.

Estación

Aunque la mayor parte de los brotes han aparecido en verano, la implicación de la influencia de la estación no se conoce. Posiblemente, el predominio estival se deba a la proliferación en dicha época de los sistemas de aire acondicionado y contaminación de los filtros correspondientes.

Hábitos de vida

Se ha encontrado que el tabaquismo guarda relación con la enfermedad. El consumo de alcohol parece ser un importante riesgo de adquisición de *Legionella*.

Enfermedades intercurrentes

Las personas con distress respiratorio o los neumoconióticos que trabajan en la industria pesada, son los más propensos a adquirir formas graves de enfermedad. También son personas de alto riesgo los trasplantados renales, inmunodeprimidos, diabéticos y enfermos pulmonares crónicos.

Turismo

Parece ser un factor importante y va ligado al cambio de clima, excesiva exposición al sol, cambios de dieta, etc.

Al tratarse de una bacteria que tiene principalmente un hábitat acuático, las medidas de control han de ir encaminadas a conseguir su eliminación de este tipo de reservorios. Por ello se recomienda la hipercloración de los sistemas de agua del hospital (hasta conseguir 4 ppm de cloro libre), mantener el agua a temperatura de 60 °C y tratar los aparatos de aire acondicionado, humidificadores, etc. con agentes microbicidas o desinfectantes (glutaraldehído, clorhexidina o etanol).

Aunque se ha comprobado que, cuando se cultivan cepas virulentas en agar-Müeller-Hinton enriquecido, pierden la virulencia y son protectoras para el cobayo, no existen aún vacunas, en parte por tratarse de una bacteria reciente y de la que se conocen pocos datos epidemiológicos.

Otros bacilos gramnegativos anaerobios facultativos

Los bacilos gramnegativos anaerobios facultativos comprenden las familias *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* y *Pasteurellaceae*. Además, en el *Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey* (1984) se incluyen en este grupo un cierto número de géneros que no se adscriben a familias determinadas, algunos de los cuales comprenden especies de interés en patología humana. Los más importantes son los géneros *Gardnerella*, *Eikenella*, *Chromobacterium*, *Cardiobacterium*, *Calymmatobacterium* y *Streptobacillus*, que se describen a continuación.

GENERO GARDNERELLA. G. VAGINALIS

Es una bacteria inmóvil, de 0,5 por 1,5-2,5 µm, que ha sido considerada durante mucho tiempo como perteneciente al género *Haemophilus (H. vaginalis)*, pero que hoy se la incluye en uno nuevo, ya que no reduce los nitratos ni necesita de los factores X y V para su crecimiento. Debido a que en ciertos casos toma el colorante de Gram, fue también incluida en el género *Corynebacterium*, puesto que incluso posee granulaciones metacromáticas en su citoplasma.

Sólo se conoce una especie de este género, *G. vaginalis*, aislada del tracto urogenital humano.

G. vaginalis, aunque se aísla con frecuencia en exudados vaginales de mujeres asintomáticas, se considera el causante de cuadros de vaginosis, con leucorrea purulenta, grisácea y maloliente, que se han denominado como «vaginitis inespecíficas». El exudado, de pH 5-5,5, si se trata con potasa al 10 % produce un característico olor a pescado de valor diagnóstico, por la liberación de aminas. No se sabe con certeza si esta bacteria por sí sola puede desencadenar el cuadro clínico o necesita la presencia de otras anaerobias *(Bacteroides, Peptococcus)*. Como *G. vaginalis* no se desarrolla a pH inferior a 4,5; en la vagina de una mujer sana con *Lactobacillus* que mantienen este pH o inferior no es posible hallar esta bacteria. En el hombre suele aislarse del prepucio y la uretra, pero las uretritis masculinas son excepcionales.

G. vaginalis se ha aislado de orina de embarazadas con bacteriuria asintomátisa o cistitis, en sujetos con trasplante renal y en enfermos con disuria y polaquiuria (síndrome uretral), por lo que el papel que esta bacteria puede desempeñar en infecciones urinarias del tracto inferior puede ser importante, aunque aún no es bien conocido.

A partir de la secreción vaginal (que se ha demostrado en estas vaginitis, que es rica en ácido succínico, butírico y acético, elaborados por bacterias anaerobias, y pobre en ácido láctico, metabolito normal de *Lactobacillus* y *Streptococcus*) se realizará una tinción de Gram, que permitirá la observación de bacilos pequeños gramnegativos intracelulares (*clue cells*, células guía). Se comprobará también la no existencia de cocos gramnegativos *(Neisseria)* y levaduras *(Candida)*, que junto a *Trichomonas* son los agentes causales más frecuentemente aislados en las vaginitis. La flora normal *(Lactobacillus)* es escasa o ausente; hay pocos leucocitos.

G. vaginalis no crece en agar-común ni en la mayoría de los medios usuales de laboratorio. Se recomienda la siembra del exudado en agar-vaginalis, agar-peptona-almidón-glucosa, agar Columbia con colistina, nalidíxico y anfotericina B con sangre humana en dos capas (agar-HB); o en medio HBT, igual al anterior adicionado de Tween 80. En 24-48 horas, incubando en atmósfera de CO_2, se obtienen unas colonias pequeñas (0,5-1 mm de diámetro), lisas, redondas, opacas y β-hemolíticas, si la sangre usada es humana, pero no con la de los animales. Puede intentarse un cultivo en búsqueda de bacterias anaerobias.

Bioquímicamente, *Gardnerella* es oxidasa y catalasa-negativa, no crece en el medio de Kligler y es sensible a 5 µg de trimetroprim en el medio de cultivo, lo que permite la diferenciación con otros géneros afines (tabla 42-3).

Tabla 42-3. Diferencias entre los géneros Haemophilus, Gardnerella y otros afines

	Haemophilus	*Gardnerella*	*Lactobacillus*	*Actinobacillus*
Tinción de Gram	–	V	+	–
Reducción de nitratos	+	–	–	+
Producción de indol	V	–	–	–
Ureasa	V	–		–
Catalasa	V	–	–	+
β-Hemólisis*	–**	+		–
Crecimiento en Kligler	–	–		+
Glucosidasas (α y β)	V	+	–	
Sensibilidad a trimetoprim		+	–	
G + C del ADN (mol %)	38-44	42-44	34-53	40-43

V = variable según las especies o biovar.
*En agar-sangre humana.
**Con excepción de *H. haemolyticus* y otras especies, todas ellas ureasa-positivas.

El metronidazol es el quimioterápico de elección, aunque también se puede administrar cotrimoxazol, tetraciclinas o β-lactámicos.

GENERO EIKENELLA. E. CORRODENS

Antes denominado HB-1, es un microorganismo aerobio y anaerobio facultativo. Aparece como un cocobacilo gramnegativo, no esporulado, no capsulado e inmóvil. Puede desarrollarse en medios aerobios y anaerobios. En el primer caso necesita hemina; el crecimiento se produce lentamente y está favorecido por una atmósfera del 5-10 % de CO_2. En anaerobiosis no la requiere obligatoriamente, y pueden emplearse suplementos con infusión de cerebro y corazón.

Forma parte de la flora normal del organismo y puede aislarse como comensal de las vías respiratorias superiores, boca, intestino y tracto genitourinario. Determinados procesos, como los traumatismos, pueden provocar el acceso del microorganismo al tejido circundante, pasar a la sangre y tras su diseminación hematógena originar diversos focos infecciosos. Con frecuencia se asocia a otras bacterias, tipo estreptococos y enterobacterias, en procesos localizados en cabeza, cuello o región abdominal. Como único microorganismo se ha observado en endocarditis, meningitis, empiema subdural, abscesos, osteomielitis, neumonías, infecciones posquirúrgicas, etc. Su papel en la enfermedad periodontal, incluso con destrucción ósea, ha sido bien demostrado. En todas las localizaciones da lugar a cuadros purulentos, con pus verdoso y típico olor a «sucio».

Las muestras obtenidas pueden inocularse en agar-sangre o agar-chocolate a 35 °C, con una atmósfera del 5-10 % de CO_2 (la adición de clindamicina, 5 μg/ml, a un medio de Todd-Hewit puede utilizarse como aislamiento selectivo). A las 18-24 horas, en agar-sangre o agar-chocolate, aparecen colonias S o R, puntiformes, en que, con un mayor tiempo de incubación y en un 45 % de los casos, se observa cómo corroen o forman pocillos en la superficie del agar y que se detectan bien por luz oblicua o por desplazamiento del crecimiento. También tras una incubación prolongada en agar-sangre, las colonias producen, en las zonas de alrededor en el medio, una coloración verdosa y, observadas con microscopio estereoscópico, permiten distinguir tres zonas definidas: una zona central clara, húmeda y reluciente, un círculo refractivo como gotas de mercurio y un perímetro externo no refractivo.

En medio líquido, el crecimiento puede adoptar diversas formas: un círculo situado bajo la superficie, enturbiamiento uniforme, gránulos adherentes a la pared del tubo, etc., según el medio utilizado. En general, la adición de 0,1 a 0,2 % de agar ó 10 μg de colesterol favorece el desarrollo.

El microorganismo es bioquímicamente inactivo, no oxida ni fermenta la glucosa, no produce catalasa, ureasa, indol, SH_2, etc., pero es oxidasa y nitratorreductasa-positivo.

Serológicamente se reconocen cuatro componentes antigénicos principales. Todas las cepas parecen tener estrechas relaciones antigénicas, pero algunas muestran diferencias cuantitativas, debidas a la falta de uno o dos de los principales componentes antigénicos.

In vitro se demuestra su sensibilidad a penicilina, ampicilina, carbenicilina, cefoxitina, cloranfenicol y tetraciclina, y su resistencia a la clindamicina y metronidazol.

No existe animal susceptible, ya que *E. corrodens* es incapaz de producir enfermedad en los animales de laboratorio.

GENERO CHROMOBACTERIUM. C. VIOLACEUM

Bacilos gramnegativos, de 0,6-0,9 μm de anchura por 1-3 μm de longitud, anaerobios facultativos y móviles por la presencia de flagelos polares o subpolares. En los medios sólidos producen colonias de consistencia butirosa y de color violeta, que son muy características. Son catalasa-positivos, generalmente oxidasa-positivos, y descomponen la glucosa y diversos azúcares por fermentación con producción de ácidos. Son resistentes a la penicilina.

La especie tipo *C. violaceum* se encuentra en el suelo, pudiendo producir en el hombre infecciones piógenas e incluso cuadros de sepsis (tabla 42-4).

GENERO CARDIOBACTERIUM. C. HOMINIS

Está compuesto por bacilos gramnegativos (0,6 × 1-3 μm), inmóviles y anaerobios facultativos, que presentan un acusado pleomorfismo, pues se observan como bacilos aislados de diferente longitud, formas filamentosa y cúmulos diversos, que pueden mostrarse como grampositivos en las extremidades y partes engrosadas de los bacilos. Son catalasa-negativos, oxidasa-positivos e indol-negativos, y atacan los azúcares por fermentación. En agar-sangre forman colonias

Tabla 42-4. Principales características de los géneros de bacilos gramnegativos anaerobios facultativos no adscritos a familias determinadas

	Gram variable	Glucosa (ácido)	Motilidad	Oxidasa	Catalasa	Reducción de nitratos	Indol	Corrosión de agar	G + C (% mol)	Cuadros clínicos
Chromobacterium	–	+	+	+	+	+	–	–	50-68	Abscesos, sepsis
Cardiobacterium	+	+	–	+	–	–	+	–	59-60	Carditis bacteriana
Calymmatobacterium	–		–					–		Granuloma inguinal, fiebre de Haverhill
Gardnerella	+	+	–	–	–	–	–	–	42-44	Vaginosis
Eikenella	–	–	–	+	–	+	–	+	56-58	Procesos piógenos diversos, enfermedad periodontal
Streptobacillus	–	+	–	–	–	–	–	–	24-26	Fiebre por mordedura de rata

Tabla 42-5. Diferenciación de Cardiobacterium hominis de otros géneros y especies afines

	Oxidasa	Catalasa	Indol	Capacidad fermentativa	Reducción de nitratos	G + C (mol %)
Cardiobacterium hominis	+	–	+	+	–	59-60
Haemophilus aphrophilus	V	–	–	+	+	42
Kingella	+	–	V	+	V	47,3-54,8
Actinobacillus actinomycetemcomitans	V	+	–	+	+	42,7
Pasteurella	+	+	V	+	+	40-45
Eikenella corrodens	+	–	–	–	+	56,2-58,2
Capnocytophaga	–	–	–	+	V	33-41

V: variable entre especies.

puntiformes y butirosas, que a las 48 horas pueden alcanzar 1-2 mm de diámetro.

Se conoce una sola especie, *C. hominis*, que forma parte de la flora normal del tracto respiratorio superior y puede ser la causa de endocarditis bacterianas (tabla 42-5).

GENERO CALYMMATOBACTERIUM. C. GRANULOMATIS

Son bacilos gramnegativos (1 × 1-2 μm), inmóviles y capsulados, que en las células mononucleares de los exudados se encuentran en gran número en el citoplasma, comunicando un aspecto característico (corpúsculos de Donovan). Se cultivan en el saco vitelino del embrión de pollo y en medios semisólidos que contengan yema de huevo. Antigénicamente (FC) están relacionados con el género *Klebsiella*.

Es patógeno para el hombre, siendo la causa del *granuloma inguinal*. Es una enfermedad ampliamente distribuida sobre todo en los países cálidos y húmedos y en las personas de raza negra. No siempre se presenta como una enfermedad venérea, sino que en ocasiones puede iniciarse en otras zonas de la piel, de aquí que se haya propuesto la denominación de *Donovanosis*.

La enfermedad se inicia en general por la aparición de un nódulo indoloro en la región genital (seudobubón), que se ulcera y se extiende por contigüidad por la piel de las áreas vecinas hasta la zona inguinal, pudiéndose presentar en ocasiones lesiones anales. Es una infección granulomatosa crónica invasiva que destruye la piel y el tejido celular subcutáneo, pero que raramente se disemina por vía linfática y no produce infecciones generalizadas. Estas lesiones pueden presentarse en otras zonas de la piel, incluso en ausencia de lesiones en el área genital.

Por punción de los seudobubones, biopsia del borde de las úlceras o frotis del exudado, pueden observarse, si se tiñen por el método de Wright, grandes células mononucleares repletas de formas cocobacilares, que son muy características. También se puede efectuar reacción cutánea de hipersensibilidad con extractos antigénicos, así como reacciones de fijación del complemento. La penicilina no es eficaz, siendo los antibióticos de elección la eritromicina y las tetraciclinas.

GENERO STREPTOBACILLUS. S. MONILIFORMIS

Bacilos gramnegativos (1 × 5 μm), anaerobios facultativos e inmóviles, que se desarrollan mejor en condiciones microaerófilas (10 % de CO_2) o anaerobias y que se reconocen por su gran pleomorfismo y crecimiento lento.

Se aíslan de la sangre de los enfermos y en medio líquido (caldo-sangre). Se desarrollan en la superficie del sedimento sanguíneo formando grumos y quedando el sobrenadante claro. Los grumos están constituidos por largos filamentos, a veces en espiral, que se fragmentan formando largas cadenas de bacilos *(Streptobacillus)* con engrosamientos bacilares o cocoides (moniliformes), que presentan una gran variabilidad en la coloración (grampositivos o gramnegativos). En medio sólido (agar-sangre) dan lugar a pequeñas colonias translúcidas de 1-2 mm de diámetro, formadas por bacilos tipo difteroides, siendo característica la presencia en sus inmediaciones de microcolonias en fase L, formadas por bacterias sin pared celular, que sólo se observan con lupa y penetran en el medio sólido, al igual que *Mycoplasma*.

Es un comensal del tracto respiratorio superior de las ratas y produce enfermedades en el hombre cuando penetra a

través de una herida por mordedura o ingresa por vía digestiva con los alimentos.

Produce uno de los tipos de *fiebre por mordedura de rata* (el otro tipo está producido por un *Spirillum, S. minus*), caracterizada porque a los pocos días de la mordedura se produce fiebre, malestar y algias, especialmente en las articulaciones, que pueden ir seguidas en algunos casos de exantema, con un 10 % de mortalidad en las formas agudas no tratadas. Por otra parte, también puede producir cuadros febriles, que se presentan como casos esporádicos y en ocasiones en forma de brotes epidémicos por consumo de alimentos contaminados, generalmente leche, y que se conocen con el nombre de *fiebre de Haverhill*.

El diagnóstico se efectúa por cultivo del exudado del lugar de la mordedura o mejor por siembra de la sangre de los enfermos en medio líquido, resiembra en agar-sangre con 10 % de CO_2, observación macro y microscópica de las colonias y la presencia de colonias en fase L.

BIBLIOGRAFIA

Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology, Vol. 1. En Krieg, N. R., y Holt, J. G. (dirs.). Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Boyce, J. M.: *Francisella tularensis* (Tularemia) and *Pasteurella* species. En Mandell, G. L.; Douglas, Jr., R. G., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 1290-1296. Wiley, New York, 1985.

Brenner, D. J.; Feeley, J. G., y Feldman, R. A.: Confusion in Bacterial Nomenclature. ASM News, 48, 511-512, 1982.

Chen, T. H., y Elberg, S. S.: *Yersina, Pasteurella* and *Francisella*. En Braude, A. I.; Davis, Ch., y Fierer, J. W. B. (dirs.): Medical Microbiology and Infectious Disease, 333-345. Saunders, Philadelphia, 1986.

Cherry, W. B.; Gorman, G. W.; Orrison, L. H.; Moss, A. G.; Steigerwalt, A. G.; Wilkinson, H. W.; Johnson, S. E.; Mckinney, R. M., y Brenner, D. J.: *Legionella jordanis:* A new species of *Legionella* isolated from water and sewage. J. Clin. Microbiol., 15, 290-297, 1982.

García-Rodríguez, J. A.: La enfermedad de los legionarios (nuevos aspectos etioepidemiológicos). Universidad de Salamanca, Salamanca, 1980.

Grenwood, J. R., y Pickett, M. J.: *Gardnerella* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 587-590, Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Gutman, L. T.: *Francisella*. En Joklik, W. K.; Willet, H. P., y Amos, D. B. (dirs.): Zinsser Microbiology, 18.ª ed., 649-655. Appleton Century-Crofts, New York, 1984.

Lattimer, G. L., y Ormsbee, R. A.: Legionnaires' Disease. Marcel Dekker, New York, 1981.

Piot, P.; Van Dyck, E.; Goodfellow, M., y Falkow, S.: A taxonomic study of *Gardnerella vaginalis*, Gardner and Dukes, 1955. J. Gen. Microbiol., 119, 373-396, 1980.

Piot, P.; Van Dyck, E.; Totten, P. y Holmes, K. K.: Identification of *Gardnerella vaginalis (Haemophilus vaginalis)*. J. Clin. Microbiol., 15, 19-24, 1982.

Skerman, V. B. D.; McGowan,V., y Shealh, P. H. A. (dirs.): Approved list of bacterial names. Int. J. Syst. Bacteriol., 30, 225-420, 1980.

Sonnenwirth, A. C., y Swartz, M. N.: *Yersinia, Francisella, Pasteurella* and *Brucella*. En Davis, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.): Microbiology, 3.ª ed., 679-691. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Taylor, E.; Barlow, D., y Blackwell, A. L.: *Gardnerella vaginalis*, anaerobes and vaginal discharge. Lancet, 1, 1376-1379, 1982.

Taylor, E., y Phillips, I.: The identification of *Gardnerella vaginalis* J. Med. Microbiol., 16, 83-93, 1983.

Wilkinson, H. W., y Fikes, B. J.: Slide agglutination test for serogrouping *Legionella pneumophila* and atypical Legionella-like organisms. J. Clin. Microbiol., 11, 99-101, 1980.

Capítulo 43

Pseudomonas y bacilos gramnegativos no fermentadores

Gonzalo Piédrola-Angulo

Pseudomonas

Concepto y clasificación

Las bacterias del género *Pseudomonas* se definen como bacilos gramnegativos, casi siempre móviles por uno o varios flagelos polares, aerobios estrictos (si bien algunas especies pueden emplear como aceptor alternativo el nitrógeno) y cuyo metabolismo utiliza sólo la vía oxidativa.

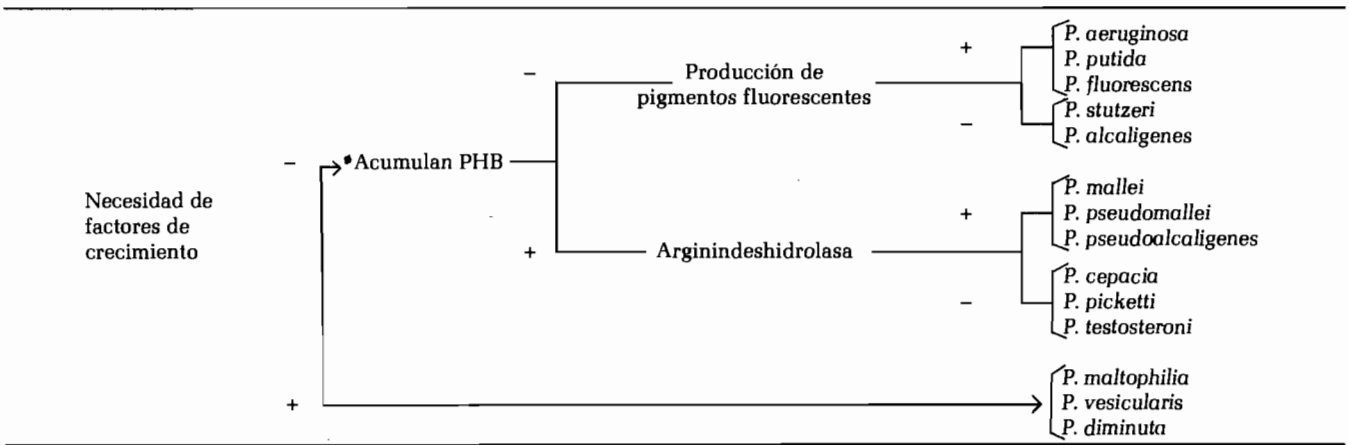
Existen múltiples problemas taxonómicos y, por ello, de diferenciación entre la familia *Pseudomonadaceae* y otras afines, entre los cuatro géneros de esta familia y entre las especies del género, en las que el *Manual* Bergey distingue 27 perfectamente individualizadas y otras muchas no claramente definidas (tabla 43-1). Esto da una idea de la complejidad del género.

Pseudomonas son bacterias muy repartidas en la naturaleza, su hábitat fundamental es el suelo y el agua, y de ahí pasan a todos los seres vivos, vegetales, animales y hombre. Algunas especies son patógenas para los vegetales y animales, y en el hombre constituyen un microbio típico oportunista, que causa infecciones fundamentalmente hospitalarias, con una marcada gravedad y alta mortalidad, a la vez que es patente su resistencia a los antibióticos y antisépticos. También este microbio parece estar asociado a la fibrosis quística infantil.

Desde un punto de vista clínico, clasificaremos las especies de *Pseudomonas* en cuatro grupos:

1. *P. aeruginosa*, o bacilo piociánico, la especie tipo y más frecuentemente patógena para el hombre, causa del clásico «pus azul» de las heridas (fig. 43-1).
2. *P. mallei* y *P. pseudomallei* (bacilo de Whitmore), productoras, respectivamente, del muermo y la melioidosis.
3. Otras especies aisladas en procesos humanos, como *P. acidovorans*, *P. cepacia*, *P. diminuta*, *P. maltophilia*, *P. pickettii*, etc.
4. El resto de las especies, que, si bien no se han demostrado patógenas humanas, pueden en un momento determinado pasar al grupo anterior.

Tabla 43-1. Principales grupos del género Pseudomonas



PHB: poli-β-hidroxi-butirato.

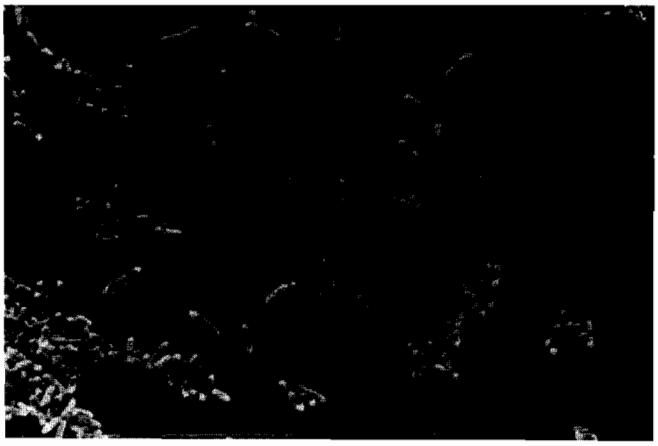


Fig. 43-1. *P. aeruginosa.* Microscopia electrónica (× 2.500).

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Estructura antigénica y diferenciación en tipos

Se distinguen tres tipos de antígenos en *P. aeruginosa:* somático (O), flagelar (H) y mucoide (M). El antígeno O, lipopolisacárido y termoestable, es responsable de la especificidad de grupo y está constituido por varios componentes antigénicos, mayores y menores. No está relacionado con la endotoxina, que posee un componente proteico. Los diversos autores que han trabajado en los serotipos de la bacteria han propuesto diferentes nomenclaturas, pero debe aceptarse la de la Asociación Internacional de Sociedades de Microbiología, que los enumera del 1 al 17, ambos inclusive. Se demuestran por reacciones de aglutinación, inmunofluorescencia y precipitación.

El antígeno H, termolábil, se considera que no está sólo restringido al flagelo y sería también antígeno de superficie. Dos bacterias con el mismo serovar pueden diferenciarse por el antígeno H, el cual a su vez puede ser de dos tipos, que se subdividen en ocho determinantes principales.

El antígeno mucoide M sería responsable de la inaglutinabilidad de algunas cepas a los antígenos O y H, hecho similar al que sucede en algunas enterobacterias; se trata de ácido poliurónico secretado por ciertas cepas.

Acción patógena

El mecanismo por el que *P. aeruginosa* desarrolla los diversos cuadros clínicos depende de dos factores: las sustancias que elabora la bacteria y la baja de defensas del huésped; esta última se estudia en los factores predisponentes. Las sustancias que produce *P. aeruginosa* son de dos tipos: unas son vertidas al medio en que se desarrolla y otras quedan total o parcialmente unidas a la célula.

Sustancias que se vierten al exterior

Son de cinco tipos diferentes:

1. Sustancias dializables, como los pigmentos. La piocianina (que significa en griego pus azul) es soluble en agua y cloroformo y químicamente deriva de la α-oxifenazona, que posee acción bactericida; para algunos, esto explicaría la eliminación de otras bacterias en los productos patológicos y que quede sólo el bacilo piociánico. Otros pigmentos son la fluoresceína (2-acetamino-3-oxifenazona) de color amarillo verdoso y soluble en agua, pero no en cloroformo, la piorrubrina, el pigmento eritrogénico y el llamado pigmento melánico de color marrón, si bien su estructura no tiene similitud alguna con la melanina.

2. Enzimas cuya acción patógena es discutida: proteasas (tres bien diferenciadas), elastasas, colagenasas, fibrinolisina, fosfolipasa C, lecitanasa, creatinasa, catalasa, argininhidrolasa, nitratorreductasa, ureasa (algunas cepas) y dos hemolisinas.

3. Exotoxinas, de las que se han descrito tres principales. Una *enterotoxina* responsable de cuadros diarreicos experimentales y humanos, del tipo de enterocolitis pseudomembranosa. La toxina *eritrodérmica*, que sería semejante al factor de permeabilidad de *V. cholerae*. La más importante es la *toxina A*, encontrada en el 77 % de las cepas patógenas y en el 11 % de las ambientales. Es un polipéptido de 71.500 daltons de peso molecular, que sólo se activa al ser escindido por una proteasa en dos fracciones: El fragmento *a* es el componente activo y actúa por una doble vía, disminuyendo el consumo de oxígeno en las mitocondrias e inactivando una transferasa, el factor de elongación (EF-2) en el proceso de la síntesis proteica; este mecanismo la hace semejante a la toxina diftérica, si bien pierde sus propiedades inmunológicas al tratarla por formol a 40 °C. El fragmento *b* sería el responsable de la unión y transporte de la toxina A en la superficie de la célula huésped. La toxina induce la formación de anticuerpos específicos, si bien no son protectores.

4. Las bacteriocinas (piocinas) son producidas por todas las cepas y tienen un gran interés en el tipado epidemiológico.

Se distinguen dos tipos, unas que son estructuras fágicas defectivas y otras no corpusculares, proteicas, de acción análoga a los antibióticos polipeptídicos.

5. Las cepas mucosas secretan un polímero acetilado de los ácidos d-manurónico y l-glucurónico, con poder antifagocitario y que explica la capacidad protectora del *slime*.

Sustancias que se liberan por lisis

La endotoxina o *complejo LPS-proteína*. La proteína de este complejo es débilmente tóxica y capaz de estimular la inmunidad inespecífica y la producción de interferón. La fracción polisacárida está constituida, como en las enterobacterias, por el lípido A (fig. 16-1), el *core* y la cadena lateral poliosídica, responsable de la especificidad antigénica; los tres elementos constituyen un monómero, el cual enlaza con otros por el lípido A. El complejo es antigénico y produce anticuerpos con capacidad protectora, del tipo de las opsoninas. Experimentalmente, su DL_{50} es más baja que la de las enterobacterias, quizá por carecer de 3-hidroximirístico.

Puede aceptarse que existen dos tipos de cepas de *P. aeruginosa*, según su poder patógeno: las cepas con virulencia exaltada se denominan «cepas V», mientras que cepas con virulencia menor se denominan «cepas *v*». La variación V → *v* puede obtenerse mediante pases en medios de cultivos; el camino inverso es más difícil, pero se ha conseguido por pases en animales.

Otros factores

La acción patógena está influida no sólo por las sustancias que elabora *P. aeruginosa* y los factores inmunitarios del huésped, sino por las propiedades que aquélla puede adquirir mediante plásmidos que codifican factores tan importantes como la resistencia a los antibióticos (β-lactámicos y aminoglucósidos) y a los agentes físicos y químicos (borato, mercuriales, hexaclorofeno, telurito y radiaciones ultravioletas), la producción de bacteriocinas y lisis por bacteriófagos, etc. Incluso experimentalmente se han podido transferir plásmidos a *P. aeruginosa* del más variado tipo, como, por ejemplo, los que codifican enzimas degradantes del petróleo.

Cuadros clínicos

Cualquier órgano o tejido es susceptible de ser afectado por esta bacteria. Describiremos los cuadros más frecuentes y más graves, pero en cualquier localización, hay que considerar una infección por este oportunista. Por otro lado, *P. aeruginosa* se aísla en el 5 % de los adultos sanos, en la piel, zona perineal, heces, etc.

Oídos. El bacilo piociánico es uno de los agentes más frecuentes de las otitis crónicas. La otitis del nadador y las otitis necrosantes que afectan tejidos blandos, cartílago y hueso (típicas de diabéticos) se deben a esta bacteria.

Senos. Son importantes las sinusitis crónicas.

Ojos. Además de infecciones muy graves en sujetos con parálisis facial, tétanos o infecciones posquirúrgicas, se han descrito queratitis en sujetos con lentillas de contacto, previamente contaminadas.

Aparato respiratorio. Las infecciones pulmonares y broncopulmonares del tipo de neumonías, abscesos, etc. son muy importantes en sujetos hospitalizados, sometidos a intubación, traqueotomía o respiración asistida, con una tumoración maligna de base y una edad de 50 a 60 años. La neumonía necrosante del recién nacido reviste especial gravedad.

Aparato digestivo. *P. aeruginosa* puede dar lugar, merced a la enterotoxina, a un cuadro de enterocolitis pseudomembranosa. Además, puede aparecer en las infecciones intraabdominales, como miembro de la flora mixta productora.

Aparato circulatorio. Endocarditis, que aparecen en sujetos drogadictos o sometidos a trasplantes o con válvulas insertadas, son de esta etiología con gran frecuencia.

Sistema urinario. Las infecciones por esta bacteria en sujetos largamente sondados, junto a otras condiciones predisponentes, son de gran importancia y frecuencia. Son también una causa frecuente de sobreinfección en los trasplantes de riñón y en los sujetos sometidos a diálisis peritoneal.

Sistema nervioso. Meningitis graves y abscesos cerebrales pueden aparecer en neonatos y pacientes inmunodeprimidos o neoplásicos.

Sistema osteoarticular. Artritis y osteomielitis se han descrito en sujetos adictos a la heroína.

Piel. La colonización de la piel de los quemados por *P. aeruginosa* es sistemática. Como consecuencia de ello pueden aparecer lesiones graves y profundas de la piel (30-90 % de los quemados). Otras infecciones, como abscesos, infecciones de la herida quirúrgica, lesiones secundarias a una sepsis (petequias, púrpuras, úlceras necróticas, ectima gangrenoso) o úlceras venosas de decúbito no son infrecuentes. El «síndrome de uña verde» es muy frecuente entre nadadores y buceadores, que se infectarían con *Pseudomonas* en el agua.

Sepsis. A partir de cualquier foco puede aparecer un grave cuadro séptico con síntomas generales (los de un shock endotóxico), más los de localizaciones secundarias en cualquier víscera, órgano o tejido.

Fibrosis quística infantil. En ella se han encontrado cepas mucosas de *P. aeruginosa*, que colonizan sistemáticamente el árbol respiratorio de los niños. Este hecho, cuyas causas no son bien conocidas, se atribuye a un defecto inmunológico, al tratamiento continuado con antibióticos que alteraría la flora normal y al uso sistemático de nebulizadores en estos enfermos. El papel del *slime* en la enfermedad no es bien conocido.

Factores predisponentes

Pseudomonas es una bacteria capaz de sobrevivir libre en la naturaleza. Como tiene unas necesidades mínimas nutricionales, persiste en el ambiente durante largos períodos de tiempo y es un claro ejemplo de patógeno oportunista. Así, vive perfectamente en el suelo de los pasillos y salas de hospital, humidificadores, sueros, líquido de diálisis, agua del grifo, material de cura y diagnóstico, prótesis, marcapasos, etc. Incluso es capaz de reproducirse en desinfectantes, como derivados del amonio cuaternario, clorhexidina, etc. Cualquier medio donde exista cierto grado de humedad, puede ser una fuente de *Pseudomonas* en el hospital. La tasa del 5 % de sujetos sanos colonizados aumenta entonces (20-40 %) en el personal hospitalario (sanitario y enfermos), y, de esa forma, la infección hospitalaria es más frecuente en aquellos tipos de enfermos que presentan, por cualquier causa, una disminución de la actividad de su sistema defensivo inmunológico. Las infecciones por *Pseudomonas* comprenden, por estas razones, del 9 al 30 % de todas las infecciones hospitalarias, cifras variables según los servicios.

Los factores predisponentes se pueden agrupar didácticamente (si bien pueden reunirse en un sujeto varias de estas condiciones) en:

1. Sujetos inmunodeprimidos, por causas:

a) Fisiológicas: prematuros, neonatos y ancianos.
b) Terapéuticas: tratamiento con corticoides, citostáticos y antimitóticos, pacientes irradiados y sometidos a preparación para trasplantes, etc.
c) Tóxicas: alcohólicos, drogadictos.
d) Clínicas: enfermos de diabetes, inmunodeficiencias, síndrome de Wiskott-Aldrich, neoplasias de cualquier loca-

lización y especialmente hemopatías malignas (leucemias, linfosarcoma, etc.), discrasias sanguíneas, fibrosis quística, malformaciones, enfermedades neurológicas, etc. La infección por *P. aeruginosa* en leucemias mielocíticas agudas es de gran interés por su alta frecuencia y elevada mortalidad (80 %).

2. Sujetos sometidos a terapéutica antibiótica previa, mal encauzada, de larga duración y variada, que han seleccionado cepas multirresistentes, prototipo de ellas *P. aeruginosa*. Asimismo, los sometidos a quimioprofilaxis antibiótica irracional.

3. Sujetos con puertas de entrada abiertas a la infección: traumatizados, traqueotomizados, intubados, quemados, sometidos a gran cirugía de cualquier localización, con riñón artificial, etc. Aquí se incluyen todas aquellas exploraciones instrumentales complejas y traumatizantes, que, no realizadas en condiciones asépticas, pueden contaminar e infectar al sujeto: cateterismos, sondajes, broncoscopias, esofagospias, cistoscopias, punciones, etc.

Diagnóstico bacteriológico

La demostración de la presencia de *P. aeruginosa* en cualquier localización debe plantear, en principio, la existencia de una simple colonización o una verdadera infección por esta bacteria; los datos clínicos permitirán solucionar esta duda. El diagnóstico se establece siempre por aislamiento e identificación de ella:

Toma de la muestra

A partir de cualquier producto patológico, a ser posible, purulento: frotis, exudado, esputos, orina, sangre, LCR, etc. La comprobación de un pus azul verdoso hará sospechar la infección por *Pseudomonas*, pero la ausencia de este color no descarta su posible aislamiento.

Examen directo

En los exudados purulentos o sedimento de orina o LCR, etc., se puede realizar una tinción de Gram y con anticuerpos fluorescentes. En la primera se observan unos bacilos de 0,5 × 1-2 µm, algo incurvados, gramnegativos, no esporulados ni capsulados, y resulta difícilmente demostrable por tinciones especiales la presencia del único flagelo polar; aparecen aislados o en parejas y cadenas cortas. Es importante comprobar la presencia de piocitos abundantes, con o sin bacterias en su interior. La observación, previa tinción con anticuerpos fluorescentes, es una técnica rápida, pero que requiere siempre comprobación por cultivo e identificación. Por último, recordemos que la simple observación de heridas, quemaduras, etc. a la lámpara de luz ultravioleta permite demostrar directamente una fluorescencia típica y única de las infecciones por *Pseudomonas*.

Cultivos

P. aeruginosa es una bacteria aerobia estricta (excepto en medios con nitrato), que crece entre 10 y 42 °C (mejor a 37 °C). Puede cultivarse en los medios más sencillos, pues sus requerimientos son mínimos, y de ahí que crezca fácilmente en cualquier medio, incluso en aquellos que no tienen más que el ion amonio, como fuente de nitrógeno, y la glucosa, como fuente de carbono y energía. Se suelen utilizar medios comunes (agar común, agar-sangre) y los medios de aislamiento de enterobacterias, pues con ellas tiene en común los diversos cuadros clínicos y, por ello, la misma marcha general de aislamiento. En agar común y a las 24 horas da unas colonias S, lisas y opacas, de 2 a 4 mm de diámetro, y otras rugosas, grandes, grisáceas, con bordes irregulares o melladuras, confluentes y con un brillo metálico anacarado; si todos estos caracteres son marcados, aparecen las típicas colonias «ostreiformes». Las colonias pueden ser también M, mucosas. Pero dos son los caracteres más típicos que dan un diagnóstico presuntivo de que pudiera tratarse de *Pseudomonas*: el olor, dulce y aromático, debido a la producción de 2-aminocetofenona, y la producción de pigmento. De los diversos pigmentos antes citados, la piocianina (azul en medio alcalino y rojo en ácido) y la fluoresceína (amarilloverdosa) son los más frecuentes y dan un color verde característico, que difunde a todo el agar; en los medios líquidos, la extracción del primero de ellos con cloroformo es muy demostrativa. Existen medios específicos para observar esta producción de pigmentos (medios de King A y B). Pero el 10-20 % de las cepas, y cada vez más frecuentemente en el medio hospitalario, son apigmentadas.

Identificación

El diagnóstico de género se realiza por dos pruebas fundamentales: en el medio de Hugh y Leifson, *P. aeruginosa* sólo oxida la glucosa, a diferencia de las enterobacterias y *Vibrio* que la fermentan; *Pseudomonas* produce una oxidasa, a diferencia de las enterobacterias que no la poseen (tabla 43-2).

El diagnóstico de especie es mucho más complejo, con un gran número de pruebas que comprenden desde el número de flagelos, actuación sobre azúcares y aminoácidos, crecimiento a pH, temperatura y salinidad disgenésicos, etc., hasta la acumulación intracelular de β-hidroxibutirato como fuente de carbono, que es el criterio internacional de separación en secciones de este género, que posee más de 200 especies (tablas 43-1 y 43-3).

Tipado epidemiológico

En las infecciones hospitalarias posee un gran interés el conocer, ante varias cepas aisladas de diversos enfermos y

Tabla 43-2. Diferencias entre Pseudomonas y otros bacilos gramnegativos afines

	Oxidasa	Hugh-Leifson	Flagelos
Pseudomonas	+	O; I; Al	Polares
Enterobacteriaceae	–	F	Peritricos; no
Vibrio, Aeromonas	+	F	Polar
Acinetobacter	–	O; I	No
Alcaligenes	+	Al	Peritricos

F: Fermenta.
O: Oxida.
I: Indiferente.
Al: Alcaliniza.

Tabla 43-3. Pruebas bioquímicas más características de diversas especies de Pseudomonas (Palleroni, 1984)

Test	*P. aeruginosa*	*P. fluorescens*	*P. putido*	*P. pseudomallei*	*P. mallei*	*P. cepacia*	*P. stutzeri*
Movilidad	+	+	+	+	–	+	+
Crecimiento a 42 °C	+	–	–	+	+	+	+
ADH	+	+	+	+	+	–	–
Hidrólisis de almidón	–	–	–	+	v	–	+
Gelatinasa	+	+	–	+	+	v	–
Reducción de nitratos	+	v	–	+	+	–	+

v: El procentaje de + o – se sitúa alrededor del 50 %. ADH: Arginindeshidrolasa.

del medio ambiente, si todas ellas son la misma (señal clara de un brote epidémico) o distintas. Para ello en *P. aeruginosa* se han utilizado diversas técnicas: La *serotipia* es compleja por las reacciones cruzadas que aparecen y el número limitado de serotipos existentes, si bien la demostración y estudios sobre antígenos menores parecen ofrecer un mejor porvenir. La *fagotipia* o lisotipia es más sensible, pero la inestabilidad de los tipos la hace de dudosa aplicación. La *piocinotipia* es la técnica más utilizada y permite la diferenciación de gran cantidad de tipos (expresados con números arábigos) y subtipos (con letras minúsculas). Se usan unas cepas de referencia y se observa la inhibición de su crecimiento por la bacteriocina de la cepa problema; este método clásico se ha sometido a múltiples variantes que permiten un mejor tipado aun de las cepas; así, la piocinosensitipia, en la que las cepas indicadoras son las que producen la bacteriocina e inhiben o no la cepa problema. La *piocianinotipia* o clasificación por la producción de 2, 3, 4 ó 5 pigmentos, mediante espectrofotometría infrarroja, no ha entrado en la práctica. La *biotipia*, mediante pruebas como la β-galactosidasa, gelatinasa, etc., es controvertida y no se usa.

Tratamiento

La marcada resistencia a los antibióticos de esta bacteria hace indispensable, en todos los casos, la necesidad de realizar un antibiograma. Los antibióticos de mayor acción sobre *P. aeruginosa* están en la tabla 43-4. Se recomienda la asociación de dos de ellos con diferente mecanismo de acción (un aminoglicósido y un β-lactámico).

La resistencia de *P. aeruginosa* se debe a la posesión de plásmidos que codifican la producción de enzimas. Estos plásmidos corresponden al grupo P y se aíslan también de *Proteus, E. coli, K. pneumoniae*, etc. Se clasifican sobre la base de la posibilidad de conjugación intraespecífica en ocho grupos de incompatibilidad, del P-1 al P-8. Los plásmidos P codifican tres tipos distintos de β-lactamasas (Id, Vd y IIIa) y enzimas inactivantes de aminoglicósidos (gentamicín-acetil-transferasas I y III, estreptomicín-adenil-transferasa, neomicín-fosfo-transferasa, kanamicín-acetil-transferasa, gentamicín-adenil-transferasa, etc.). También existen resistencias no mediadas por enzimas, en especial a la gentamicina y amikacina.

Algunos plásmidos, al infectar cepas de *P. aeruginosa*, modifican con carácter reversible la producción de piocinas. Este hecho tiene interés biológico (al poseer el plásmido se pierde el efecto letal sobre las bacterias próximas) y epidemiológico (se modifica erróneamente el piocinotipo).

Inmunidad y vacunas

La infección por *P. aeruginosa* requiere en la mayoría de los casos una disminución de la inmunidad del huésped, y de ahí que la respuesta ante la infección bacteriana sea muy débil. Se han descrito anticuerpos séricos IgG frente al antígeno somático y la exotoxina A, en sujetos que superaron una infección grave. También se ha podido demostrar cierto grado de respuesta celular inmune.

El uso de vacunas con el antígeno LPS-proteico somático solo o unido a toxoides de proteasa y elastasa o al toxoide A es muy discutido. Se ha tenido éxito con vacunas polivalentes (7 serotipos), en la prevención de la infección en quemados, sobre todo, si a la vez se administra suero hiperinmune de personas sanas vacunadas con el mismo preparado. Sin embargo, la respuesta de anticuerpos protectores aglutinantes, en enfermos de leucemia y fibrosis quística inmunizados, no ha sido tan eficaz; en otras neoplasias, los resultados son muy contradictorios.

Tabla 43-4. Principales antibióticos, por familias, utilizados en el tratamiento de las infecciones por Pseudomonas

Penicilinas	Cefalosporinas	Aminoglucósidos	Otros
Carbenicilina	Cefsulodina	Gentamicina	Tienamicina
Ticarcilina	Cefoperazona	Tobramicina	Aztreonam
Apalcilina	Ceftazidima	Dibecacina	Carumonam
Carindacilina	Cefotaxima	Sisomicina	Fosfomicina
Carindacilina	Moxalactam	Netilmicina	Ciprofloxacina
Azlocilina	Ceftizoxima	Amikacina	
Piperacilina			

OTRAS PSEUDOMONAS

P. mallei

Es el agente productor del *muermo*, que es una enfermedad propia de los solípedos (caballo, asno y mulo), pero que puede transmitirse al hombre. Afecta también a óvidos, cápridos, perros y gatos, animales que se infectan por vía nasal y en los que produce un cuadro linfoide, agudo o crónico, con nódulos diseminados.

El hombre puede infectarse por trabajar con solípedos (cocheros, jinetes, soldados de caballería, palafreneros, etc., y veterinarios) de los que se infectaría, o por manipular la bacteria en el laboratorio. El contagio directo se produce con el moco nasal de los animales, que es muy contagioso, a través de la vía buconasal; el contagio indirecto con objetos contaminados (arneses, pesebres, utensilios de limpieza, etc.) es menos frecuente.

P. mallei es un bacilo gramnegativo, inmóvil, pues no posee flagelos, de 0,5 × 1,5-4 μm. Aerobio estricto, crece típicamente en medio de patata sembrado en estría y produce un cuadro, por inoculación intraperitoneal del cavia macho, de orquitis purulenta, de la que se obtienen las bacterias en cultivo puro (signo de Straus). Es sensible a las sulfamidas. El muermo es una enfermedad en vías de desaparición.

P. pseudomallei

Es el agente productor de la *melioidosis*, enfermedad de los roedores, que contaminan el suelo y agua. El hombre se infectaría por inhalación o al beber agua contaminada. Aparece en Corea, Asia, Vietnam, Filipinas y Australia, y se han descrito casos en Estados Unidos y Francia.

Cursa en tres formas clínicas diferentes: sobreaguda o de septicemia fatal, subaguda y crónica, con la aparición de abscesos víscero-cutáneos o en los huesos.

El diagnóstico se establece por la demostración en el pus o en hemocultivo de bacilos de 0,5 × 1,5 μm, con varios flagelos polares y que dan unas colonias de olor dulce característico; crece en agar McConkey, agar-desoxicolato y agar-cetrimide. Las colonias aisladas se identifican bioquímicamente y por pruebas serológicas y de inmunofluorescencia. El tratamiento de elección es el cloranfenicol, solo o asociado a tetraciclinas.

P. cepacia

Es un microorganismo patógeno oportunista, productor de infecciones respiratorias, urinarias y de la herida quirúrgica, y endocarditis, descritas principalmente en adictos a la heroína. Se ha aislado de nebulizadores e incluso de recipientes con clorhexidina. Es altamente resistente a los antibióticos.

P. maltophilia

Como la anterior, es una bacteria oportunista y se ha aislado de infecciones postoperatorias y del huésped comprometido. Es móvil por varios flagelos perítricos y aerobia estricta. Resulta típico que casi todas las cepas dan negativa la reacción de la oxidasa.

Otras *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. diminuta*, etc.) se aíslan de heridas, esputos, líquidos orgánicos diversos, sangre, ambiente hospitalario, etc., siendo su poder patógeno ocasional y discutible.

Otros bacilos gramnegativos no fermentadores

Si las bacterias gramnegativas, que no fermentan la glucosa, constituyen aproximadamente el 15 % de todos los aislamientos que se efectúan en los laboratorios de microbiología clínica, alrededor de un 5 % no se corresponden con *Pseudomonas* y se incluyen en un grupo heterólogo, que, aunque cuantitativamente minoritario, tiene interés por su papel en las infecciones hospitalarias y su frecuente resistencia a los agentes antimicrobianos.

Estos microorganismos no fermentan la glucosa, aunque algunos pueden hacerlo lentamente; no producen acetilmetilcarbinol. No son esporulados y su morfología celular puede, en algunos casos, no ser claramente bacilar. Suelen plantear problemas de identificación, porque con frecuencia son inertes en las pruebas bioquímicas usadas habitualmente. Se estudian a continuación, de forma esquemática, los implicados en patología humana, recogiéndose en la tabla 43-5 sus principales caracteres diferenciales.

Eikenella corrodens

Antes denominado HB-1, es un microorganismo aerobio y anaerobio facultativo. Aparece como un cocobacilo gramnegativo, no esporulado, no capsulado e inmóvil. Puede desarrollarse en medios aerobios y anaerobios. En el primer caso necesita hemina; el crecimiento se produce lentamente y está favorecido por una atmósfera del 5-10 % de CO_2. En anaerobiosis no la requiere obligatoriamente, y pueden emplearse suplementos con infusión de cerebro y corazón.

Forma parte de la flora normal del organismo y puede aislarse como comensal de las vías respiratorias superiores, boca e intestino y tracto genitourinario. Determinados procesos, como los traumatismos, pueden provocar el acceso del microorganismo al tejido circundante, pasar a la sangre y tras su diseminación hematógena originar diversos focos infecciosos. Con frecuencia se asocia a otras bacterias, tipo estreptococos y enterobacterias, en procesos localizados en cabeza, cuello o región abdominal. Como único microorganismo se ha observado en endocarditis, meningitis, empiema subdural, abscesos, osteomielitis, neumonías, infecciones posquirúrgicas, etc. Su papel en la enfermedad periodontal, incluso con destrucción ósea, ha sido bien demostrado. En todas las localizaciones dan lugar a cuadros purulentos, con pus verdoso y típico olor a «sucio».

Las muestras obtenidas pueden inocularse en agar-sangre o agar-chocolate a 35 °C, con una atmósfera del

Tabla 43-5. Principales caracteres diferenciales de bacilos gramnegativos no fermentadores y generos afines

	Hugh-Leifson	Movilidad	Oxidasa	Catalasa	Otras pruebas de interés	G + C (mol %)
Pseudomonas aeruginosa	O	+	+	+	ADH positiva	67
Alcaligenes spp.	–	+	+	+	ADH negativa	56-70
Eikenella corrodens	–	–	+	–	Corroe el agar del medio	56-58
Acinetobacter calcoaceticus	–*	–	–	+	Penicilín-resistente**	38-47
					Ureasa positiva	
Moroxella spp.	–	–	+	+	Penicilín-sensible	40-47
Flavobacterium meningosepticum	O	–	+	+	Penicilín-resistente	37
					Pigmento amarillo	
Kingella spp.	F	–	+	–	Ureasa negativa	47-55
Cardiobacterium hominis	F	–	+	–	Ureasa negativa	59-60
Actinobacillus spp.	F	–	+	+	Ureasa positiva	40-43
Chromobacterium violaceum	F	+	+	+	Pigmento violeta	65-68

O: Oxida. F: Fermenta. ADH: Arginindeshidrolasa.
*Algunos grupos taxonómicos oxidan la glucosa.
**En el medio de cultivo a 1 U/ml de penicilina.

5-10 % de CO_2 (la adición de clindamicina, 5 µg/ml, a un medio de Todd-Hewit puede utilizarse como aislamiento selectivo). A las 18-24 horas, en agar-sangre o agar-chocolate, aparecen colonias S o R, puntiformes, en que, con un mayor tiempo de incubación y en un 45 % de los casos, se observa cómo corroen o forman pocillos en la superficie del agar bien por luz oblicua o por desplazamiento del crecimiento. También tras una incubación prolongada en agar-sangre, las colonias producen, en las zonas de alrededor del medio, una coloración verdosa y, observadas con microscopio estereoscópico, permiten distinguir tres zonas definidas: una zona central clara, húmeda y reluciente, un círculo refractivo como gotas de mercurio y un perímetro externo no refractivo.

En medio líquido, el crecimiento puede adoptar diversas formas: un círculo bajo la superficie, enturbiamiento uniforme, gránulos adherentes a la pared del tubo, etc., según el medio utilizado. En general, la adición de 0,1 a 0,2 % de agar o 10 µg de colesterol favorece el desarrollo.

El microorganismo es bioquímicamente inactivo, no oxida ni fermenta la glucosa, no produce catalasa, ureasa, indol, SH_2, etc., pero es oxidasa y nitratorreductasa-positivo.

Serológicamente se reconocen cuatro componentes antigénicos principales. Todas las cepas parecen tener estrechas relaciones antigénicas, pero algunas muestran diferencias cuantitativas, debidas a la falta de uno o dos de los principales componentes antigénicos.

In vitro se demuestra su sensibilidad a penicilina, ampicilina, carbenicilina, cefoxitina, cloranfenicol y tetraciclina, y su resistencia a la clindamicina y metronidazol.

No existe animal susceptible, ya que *E. corrodens* es incapaz de producir enfermedad en los animales de laboratorio.

Acinetobacter

Bajo este género se han agrupado bacterias de taxonomía y nomenclatura muy complejas; sus sucesivas denominaciones se han basado en determinadas propiedades: *Bacterium anitratum, Herellea vaginicola, Mima polymorpha, Moxarella lwoffi, Achromobacter*, etc. Posteriormente se admitió un solo género, *Acinetobacter*, con cuatro especies o biovars (*anitratus, haemolyticus, lwoffi* y *alcaligenes*). En la última edición del *Manual Bergey* sólo se admite una especie *A. calcoaceticus*, con ocho grupos fenotípicos.

Estos microorganismos son bacilos cuyo tamaño puede variar según el tipo de medio empleado para el crecimiento. A partir de las colonias obtenidas en agar adoptan formas diplobacilares de 0,7 × 1 µm, mientras que a partir de caldo lo que predominan son las formas típicas de bacilos de 1,2 × 2 µm. Muchas cepas son capsuladas.

Son aerobios estrictos. Su temperatura óptima es de 37 °C, aunque muchas cepas crecen a 42 °C. Inmóviles. Carecen de lisina y ornitín-descarboxilasa, arginín-deshidrolasa y nitrato-reductasa. Oxidasa-negativos. Crecen bien en los medios usuales. Algunos grupos son capaces de producir ácidos a partir de la glucosa.

Son bacterias muy ubicuas, que forman parte de la flora normal de la piel y mucosas de los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario del hombre y animales. Su papel patógeno se relaciona con su capacidad oportunista, principalmente en el medio hospitalario, y con fenómenos de selección por abuso de antibióticos, estados de inmunosupresión, existencia de portadores sanos, multiplicación de actos quirúrgicos y exploratorios, etc. Originan diversos procesos infecciosos localizados, supuraciones, meningitis, septicemias, etc.

El aislamiento de estos microorganismos puede efectuarse en los medios usuales de laboratorio, y su identificación es relativamente fácil, ya que son inmóviles, oxidasa-negativos y no oxidan ni fermentan la glucosa (los biovars *anitratus* y *haemolyticus* oxidan los hidratos de carbono por la vía aldosa-deshidrogenasa). Desde un punto de vista epidemiológico puede tener interés la fagotipia, mediante fagos específicos de las variedades capsuladas y recientemente aisladas, lo que permite obtener un total de 98 lisotipos, y la serotipia, que mediante reacciones de fluorescencia permiten diferenciar 28 serovars. Son resistentes a la penicilina y cefalosporinas; por el contrario, cualquiera de ellos suele ser sensible a carbenicilina, cotrimoxazol y aminoglicósidos. De todas formas, la realización de un antibiograma está expresamente indicada por la producción frecuente de enzimas inactivantes.

Alcaligenes

Los miembros de este género son bacilos gramnegativos, aerobios estrictos, oxidasa-positivos, móviles por flagelos

perítricos y que no producen ácidos de la glucosa por vía oxidativa ni fermentativa.

En este género se incluyen dos especies auténticas, *A. faecalis* (no reduce los nitratos a nitritos, contenido en G + C de 56-59 mol %) y *A. denitrificans* (reduce los nitratos y G + C de 63-69 mol %). En esta última especie se distinguen a su vez dos subespecies, *denitrificans* y *xylosoxidans*. Existen otras ocho especies mal definidas taxonómicamente y sin importancia clínica.

Las dos especies crecen en los medios usuales, como agar MacConkey, y utilizan el citrato como fuente de carbono. Las colonias son circulares, lisas, opacas y no pigmentadas, y su tamaño a las 24 horas de incubación es de 0,5 a 1 mm.

El hábitat de *A. faecalis* es semejante al de *Pseudomonas*. Bacteria saprofita del agua y del suelo, puede aislarse de cualquier área del organismo humano, dando lugar a infecciones oportunistas. En los hospitales puede encontrarse en aparatos con humedad, como respiradores, sistemas de hemodiálisis, soluciones intravenosas, etc. La septicemia sería el cuadro clínico más importante producido, aunque también se han descrito otros cuadros.

Si bien tras el aislamiento e identificación debe procederse a la realización del antibiograma, suelen ser sensibles al cotrimoxazol. El comportamiento ante los aminoglicósidos, ampicilina, cloranfenicol, cefalosporinas y carbenicilina es variable, si bien *A. denitrificans* tiende a ser resistente a los agentes antimicrobianos, en especial a los aminoglicósidos.

Flavobacterium

Este género comprende bacilos gramnegativos de 0,5 × 1-3 µm, aerobios estrictos, inmóviles, oxidasa-positivos, que producen colonias pigmentadas. Utilizan la glucosa y otros hidratos de carbono, pero la producción de ácidos suele ser muy lenta. La especie tipo es *Flavobacterium meningosepticum*, que, aun siendo excepcionalmente patógena, ha sido responsabilizada de epidemias de meningitis en lactantes y prematuros. Otras especies de este género no tienen importancia clínica, aunque se han aislado en pacientes hospitalizados.

Dado que el crecimiento en agar MacConkey es variable, debe utilizarse para el aislamiento agar-sangre o agar-chocolate. El aspecto de las colonias pigmentadas de amarillo y formadas por bacilos inmóviles capsulados orienta el diagnóstico, que deberá ser confirmado por otras pruebas. Se distinguen nueve serovars (A-K), siendo C el más frecuentemente aislado.

Son resistentes a los aminoglucósidos y sensibles cotrimoxazol, rifampicina, novobiocina y cefoxitina.

Moraxella

Son cocobacilos gramnegativos, pleomórficos, inmóviles y aerobios estrictos. Su forma más corriente asemeja más a los cocos (1 µm de diámetro) que a los bacilos (1 × 2-3 µm). Hoy día, junto a *Neisseria*, *Kingella* y *Acinetobacter*, forma parte de la familia *Neisseriaceae*. El género *Moraxella* comprende los subgéneros *Moraxella* y *Branhamella*. La especie tipo del género es *M. lacunata* (diplobacilo de Morax-Axenfeld). Otras especies incluidas son *M. osloensis*, *M. phenylpyruvica*, *M. bovis*,*M. nonliquefaciens* y *M. atlantae*.

Se comportan como bacterias parásitas del hombre y de los bóvidos, y *M. lacunata* provoca conjuntivitis agudas y más rara vez úlceras corneales, meningitis y endocarditis.

Estos últimos cuadros pueden ser causados por las otras especies citadas, así como pueden serlo las infecciones respiratorias, genitourinarias, osteoarticulares, etc., aunque su verdadero poder patógeno está en duda.

El diagnóstico bacteriológico se establece fundamentalmente del pus conjuntival. Debe efectuarse un examen directo y se observa un pleomorfismo variable, pero nunca la asociación en tétradas (diagnóstico diferencial con *Neisseria*). El aislamiento debe efectuarse sobre agar con suero o sangre; las colonias pequeñas aparecen a las 24 horas y las mayores, en 48 horas. Son redondas, abombadas, brillantes y opalescentes. La confirmación se realizará por el aspecto morfológico, el ser oxidasa-positivos y aerobios estrictos, reducción de los nitratos a nitritos, no acidificación de la glucosa, sensibilidad a la penicilina, etc.

Las variedades más frecuentes son proteolíticas. El suero coagulado se licua lentamente y forma «lagunas» bajo las colonias crecidas en el medio.

Moraxella son bacterias sensibles a numerosos antibióticos: penicilina (a diferencia de *Acinetobacter* y *Flavobacterium*), aminoglicósidos, cloranfenicol, tetraciclina, eritromicina, etc.

Otros géneros

Kingella (aerobio) y *Actinobacillus* (anaerobio facultativo) son fermentadores de la glucosa y se diferencian por la producción de enzimas (catalasa, ureasa) (tabla 43-5). Dan cuadros clínicos de tipo oportunista, destacando en *Kingella* las infecciones oculares y sepsis. Para el tratamiento es indispensable el estudio de la sensibilidad *in vitro* a los antibióticos.

BIBLIOGRAFIA

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Cross, A. S.; Sadoff, J. C.; Iglewski, B. H., y Sokol, P. A.: Evidence for the role of toxin A in the pathogenesis of infections with *Pseudomonas aeruginosa* in humans. J. Infect. Dis., 142, 538-546, 1980.

Doggett, R. G.: *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical manifestations of infection and current therapy. Academic Press, New York, 1979.

Gilardi, G. L.: Glucosa nonfermenting Gram-negative bacteria in clinical microbiology. CRC Press, West Palm Beach. Florida, 1978.

Homma, J. Y.: Roles of exoenzymes and exotoxin in the pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* and the development of a new vaccine. Jpn. J. Exp. Med., 50, 149-165, 1980.

Mira, J., y Rodríguez Iglesias, M. A.: Bacterias gramnegativas no entéricas de interés clínico. Serv. Publ. Univ. Cadiz, 1984.

Palleroni, N. J.: *Pseudomonadaceae*. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Reynolds, H. J.; Levine, A. S., y Wood, R. E.: *Pseudomonas aeurogi-nosa* infections: Persisting problems and current research to find new therapics. Ann. Intern. Med., 82, 819-831, 1975.

Sabath, L. D.: *Pseudomonas aeruginosa*. Hans Huber, Wien, 1979.

Young, L. S.: The role of exotoxins in the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections, J. Infect. Dis., 142, 626-630, 1980.

Capítulo 44

Haemophilus y Bordetella

Gonzalo Piédrola-Angulo

Haemophilus

Concepto

Entre los bacilos gramnegativos aerobios y facultativamente anaerobios, familia *Pasteurellaceae*, se encuentran tres géneros principales, *Pasteurella*, *Haemophilus* y *Actinobacillus*.

El género *Haemophilus* está constituido por bacilos de 0,4 × 1 µm, inmóviles. gramnegativos, algunos capsulados, que reducen los nitratos y son parásitos estrictos del hombre y animales. Estas bacterias no se cultivan en los medios usuales, ya que necesitan la adición de sangre, característica que da el nombre al género (*Haemophilus* = afinidad por la sangre). Su vitalidad es muy escasa y resisten muy mal el calor, la desecación y los antisépticos.

Hoy día sabemos que esta necesidad de sangre en los medios se debe a la incapacidad que tienen estos microbios de sintetizar dos factores, que se han denominado con las letras X y V. El factor X, termoestable, está constituido por el «hem», hemina o ferroprotoporfirina, base de los citocromos respiratorios bacterianos y la catalasa. El factor V es termolábil (se destruye a 120 °C durante 15 minutos) y es el nicotinamida-adenín-dinucleótido y su fosfato (NAD y NADP), esenciales aceptores de hidrógeno en el proceso respiratorio bacteriano.

La importancia de este género deriva del papel que desempeña en diversos cuadros clínicos y de la adquisición de resistencias a los antibióticos usados en la actualidad.

Clasificación

Se han descrito 19 especies distintas del género *Haemophilus*, que se clasifican precisamente por sus necesidades para el crecimiento de los factores X, V o ambos (tabla 44-1). Desde un punto de vista clínico podemos agruparlas en los siguientes apartados:

1. *H. influenzae* o bacilo de Pfeiffer, agente productor de meningitis, sepsis, neumonías, epiglotitis, etc.
2. *H. parainfluenzae*, *H. haemolyticus*, *H. parahaemolyticus* y *H. aphrophilus*, aislados de infecciones respiratorias, septicemias y sobre todo meningitis y endocarditis. Son saprofitos de las vías respiratorias altas.
3. *H. aegyptius*, productor de conjuntivitis agudas y subagudas.
4. *H. ducreyi*, productor del chancro blando o venéreo.
5. Otros *Haemophilus* (*H. suis*, *H. ovis*, *H. muris*, *H. gallinarum*, etc.) son patógenos animales, pero no para el hombre.

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Estructura antigénica y clasificación en tipos

En el hombre pueden aislarse cepas capsuladas y acapsuladas de *H. influenzae*. El componente antigénico más importante es el polisacárido capsular. Se han descrito seis distintos tipos de antígenos capsulares (serovars) y se han denominado con letras de *a-f*. Este tipado de *H. influenzae* puede realizarse con sueros específicos, mediante pruebas de hinchazón de la cápsula, aglutinación, precipitación y contrainmunoelectroforesis.

El polisacárido de *H. influenzae*, serovar *b*, es el de más frecuente aislamiento de los casos humanos (95 %), y se trata de un polirribofosfato (PRP); este PRP puede demostrarse en el líquido cefalorraquídeo y otras localizaciones, los cuadros clínicos manifiestos.

Existen relaciones entre diversos tipos de polisacáridos de *H. influenzae* y otras bacterias. Así, el serovar *b* posee reacciones cruzadas con los neumococos tipos 6, 15, 29 y 35; el serovar c las tiene con el neumococo tipo 11 y el serovar *a*, con el neumococo tipo 6. Asimismo, el serovar *b* posee antígenos comunes con *S. aureus*, *Bacillus subtilis* y ciertas cepas de *E. coli*.

Este último parece tener cierto interás y se trataría del antígeno K_1, polisacárido superficial de dicha enterobacteria.

Además del antígeno capsular, existen una proteína somática A y los antígenos M y P, que son específicos de especie, pero no de tipo. Se han descrito un total de 41 determinantes antigénicos. Las cepas no capsuladas son serológicamente heterogéneas y se aíslan con más frecuencia cada vez, en infecciones de sujetos adultos (bronquiales, óticas y sinusales).

Tabla 44-1. Principales especies patógenas para el hombre del género Haemophilus

	Necesidad de				
	Factor X	Factor V	CO_2	Hemólisis	Otros datos
H. influenzae	+	+	−	−	Xilosa-positivo
H. aegyptius	+	+	−	−	Xilosa-negativo
H. haemolyticus	+	+	−	+	
H. aphrophilus	+	−	+	−	Lactosa-positivo
H. ducreyi	+	−	+	+	Lactosa-negativo
H. parainfluenzae	−	+	−	−	Lactosa-negativo
H. parahaemolyticus	−	+	−	+	
H. paraphrophilus	−	+	+	−	Lactosa-positivo

Acción patógena

La virulencia de *H. influenzae* parece estar en relación con la cápsula, pero el antígeno somático también ha demostrado un papel en la patogenia e inmunogenicidad, tanto de las cepas capsuladas como de las que no lo son. Existe una endotoxina, que en animales de experimentación es capaz de producir lesiones epiteliales en la tráquea y cilioestasis. Las infecciones causadas suelen ser piógenas, con leucocitosis local y sistémica, y una respuesta inflamatoria y febril es la norma en las infecciones agudas.

Cuadros clínicos

Cepas capsuladas de *H. influenzae* (al igual que *S. pneumoniae* y *K. pneumoniae*, con los que posee una marcada similitud patogénica) aparecen normalmente en las vías respiratorias superiores de un 2-7 % de personas y pueden convertirse en patógenas, si en los sujetos no aparecen anticuerpos anticapsulares protectores. La vía de difusión seguida por la bacteria es la hematógena y explicaría los diversos cuadros clínicos, el reparto por edades y el papel de los anticuerpos séricos protectores. De los seis serovars antigénicos, el más frecuentemente aislado en los cuadros patológicos es el *b*. Cepas no capsuladas se manifiestan también en el esputo de bronquíticos crónicos, pero serían índice, más que de una infección verdadera, de una simple colonización. Del 60 al 80 % de estas cepas pueden obtenerse, también, de la garganta de niños pequeños y de adultos, ambos sanos.

Otitis y epiglotitis. En los sujetos susceptibles, fundamentalmente niños, y después o no de una infección viral que disminuye las defensas, pueden aparecer *otitis* media, sinusitis, faringitis, bronquitis aguda, laringotraqueobronquitis y, sobre todo, *epiglotitis*. La epiglotitis por *H. influenzae* es un cuadro grave, que cursa con un gran edema rojo cereza y disnea, que puede requerir una inmediata traqueotomía preventiva de la asfixia; aparece en niños de 3-8 años.

Infecciones respiratorias. Puede aparecer en niños y adultos; una neumonía, tras un cuadro gripal, hizo que se considerara que la bacteria era el agente productor de la gripe o influenza, hasta que en 1933 fue descrito el virus causal y se comprobó así que la bacteria no producía más que una infección secundaria. Otras veces, el cuadro neumónico aparece como sobreañadido en sujetos con bronquitis crónica, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), tos ferina, sarampión, tuberculosis, etc., o como complicación en la diabetes, alcoholismo y deficiencias inmunitarias. En estos cuadros, el papel de las cepas no capsuladas parece estar demostrado.

En los últimos años se ha observado un aumento importante de las bronquitis crónicas por *H. influenzae* en los pacientes ancianos, habiendo pasado a ocupar el segundo lugar en aislamientos de enfermos bronquíticos, tras *S. pneumoniae*. Este incremento de la incidencia parece deberse, entre otras causas, a la facilidad que tienen estas bacterias de proliferar en presencia de restos de nicotina, por lo que las secreciones de un bronquítico crónico fumador serían un buen caldo de cultivo para *H. influenzae*, máxime cuando en el anciano se ha demostrado una disminución patente del título de anticuerpos anticapsulares frente a dicha bacteria.

Celulitis. Es un cuadro clínico importante, de localización preferentemente facial, porque aparece tras una infección respiratoria y precede en muchos casos a una bacteriemia, y posible meningitis posterior. Aunque el cuadro es producido muchas veces por estreptococos y estafilococos, esta posibilidad hay que considerarla, por sus graves complicaciones.

Meningitis. El cuadro más grave producido por el bacilo de Pfeiffer es el de *meningitis*. En los niños representa entre el 5 y el 45 % de los agentes productores de meningitis purulentas, siendo en Estados Unidos la primera causa, al parecer en relación con el uso cada vez más frecuente de guarderías infantiles; en nuestro medio es la segunda causa, tras *N. meningitidis*. La mortalidad es alta (hasta un 12 %), dependiendo de la rapidez de la instauración del tratamiento y de la sensibilidad de la cepa al antibiótico utilizado. Afecta a los niños de 3 meses a 7 años de edad (aunque se han descrito casos de meningitis neonatal) y es particularmente grave en el segundo semestre de la vida. El cuadro clínico, casi siempre producido por el serovar *b*, es el de una meningitis purulenta, pero sin aparición de petequias. Se encuentra en continuo aumento en las colectividades desarrolladas y puede dejar lesiones residuales importantes en el cerebro. Entre los antecedentes, casi siempre aparece una infección previa de las vías respiratorias altas, sinusitis, otitis, celulitis o neumonía.

Otras localizaciones menos frecuentes. Son las artritis (niños de 1-2 años de edad), pleuritis, pericarditis y endocarditis, que pueden ser causadas por esta bacteria sola o asociada a otras.

Las endocarditis por *Haemophilus* se caracterizan en un 50 % de los casos por la embolización de arterias importantes. Abscesos cerebrales, osteomielitis, artritis e infecciones de vías biliares son excepcionales.

Factores predisponentes

La edad de 3 meses a 5 años y los ancianos (por no poseer anticuerpos protectores o tenerlos a niveles muy bajos), la presencia de cuadros generales (diabetes) o locales (infecciones respiratorias) y la aparición de cuadros localizados previos por el mismo microorganismo facilitan los diversos cuadros clínicos. La meningitis por *H. influenzae* es mucho más frecuente en los niños con anemia de células falciformes que en el resto de la población infantil. Las infecciones son más frecuentes en invierno y comienzos de la primavera; la transmisión de unos a otros sujetos es por vía aérea.

Diagnóstico bacteriológico

Toma de la muestra

Se realiza, según los cuadros clínicos, a partir de exudado faríngeo, esputos, aspiración bronquial, punción transtraqueal o pulmonar, líquidos purulentos (otitis, sinusitis, pleuritis, abscesos, celulitis, etc.), líquido cefalorraquídeo o sangre (sepsis, endocarditis y todo paciente febril sospechoso de infección por *H. influenzae*). Los escobillones usados para tomas estarán siempre húmedos, ya que esta bacteria es muy sensible a la desecación.

Examen directo

En contados casos posee valor. El líquido purulento y el sedimento del LCR demostrarán, tras la tinción por el método de Gram, la presencia de piocitos y bacilos gramnegativos con coloración bipolar; su tamaño medio es de 0,5 × 1 µm, pero no son infrecuentes las formas cocoides o alargadas que pueden llegar a 8 µm o más. La diferencia en meningitis, con cocos gramnegativos y positivos, es muy orientativa, pero en todos los casos el cultivo inmediato es imprescindible.

Técnicas de coaglutinación

En el caso de una supuesta meningitis por *H. influenzae*, en que la urgencia del diagnóstico es máxima para instaurar el tratamiento inmediato, puede demostrarse la presencia del antígeno polisacárido capsular (PRP), mediante técnicas de coaglutinación: *Staphylococcus aureus* son usados como soporte de inmunoglobulinas antipolisacárido; la presencia de PRP aglutinará los estafilococos. Es una reacción rápida y muy útil, que se ha aplicado también en suero y orina de los casos de sepsis. Otras reacciones inmunológicas, como la precipitación, fluorescencia directa y contrainmunoelectroforesis, también se han usado, si bien esta última no ha dado tan buenos resultados como en las infecciones por *N. meningitidis* y *S. pneumoniae*.

Cultivo e identificación

El cultivo se realizará directamente a partir de los productos patológicos obtenidos o tras homogeneización del esputo con enzimas mucolíticas (pancreatina) y agitación. Dada la necesidad de factores X y V en esta bacteria, las siembras se hacen en agar-chocolate, agar-sangre de conejo o caballo o agar con extracto de sangre e infusión de cerebro-corazón (agar-Levinthal). Estos medios pueden ser suplementados con hemina o sembrando conjuntamente con *S. aureus*, que proporciona abundante factor V, lo que se comprueba por el más abundante crecimiento de *H. influenzae* en las cercanías de las colonias del estafilococo (satelitismo). Para evitar el crecimiento de otros microorganismos se debe utilizar agar-chocolate con bacitracina (300 mg/l).

Como se plantea normalmente el diagnóstico de género y especie, según las necesidades de los factores X y V y CO_2, se realizarán siembras en medios que carecen de factor X (agar-extracto de levaduras) y factor V (agar-chocolate sometido a autoclave) y en atmósfera de 5-10 % de CO_2; existen discos en el mercado que poseen los factores X, V y ambos lo que permite en agar-triptosa comprobar las necesidades de ellos (fig. 44-1).

En aerobiosis, a 37 °C y pH de 7,6 se obtienen a las 24-48 horas unas colonias pequeñas (0,5 mm) y blanquecinas, tipo M o S, en el caso de ser bacterias capsuladas y R si no poseen cápsula. A la luz oblicua, las colonias lisas son típicamente iridiscentes e incluso azuladas.

La demostración de los factores X y V, la no hemólisis y algunas pruebas bioquímicas adicionales permiten el diagnóstico de especie (v. tabla 44-1). La mayoría de especies de

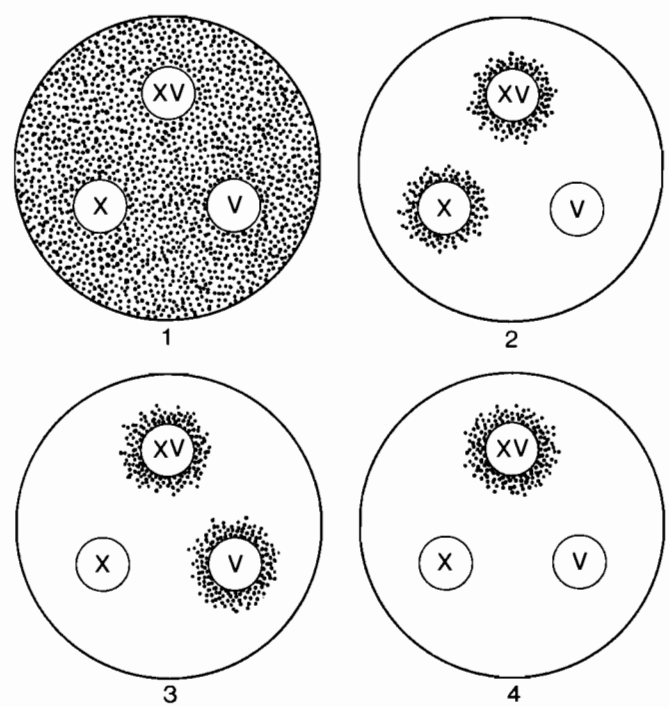


Fig. 44-1. Demostración de las necesidades en factores X y V. Medio usado: agar-triptosa que no posee ninguno de ellos. 1) Bacteria que crece en todo el medio: no es un *Haemophilus*. 2) Bacteria del género *Haemophilus*, que necesita el factor X. 3) Bacteria del género *Haemophilus*, que necesita el factor V. 4) Bacteria del género *Haemophilus*, que necesita ambos factores.

Haemophilus son oxidasa-positivas. Se han descrito 5 biovars de *H. influenzae*, diferenciándose entre ellos por la producción de indol, ureasa y ornitín-descarboxilasa. Los micrométodos para estas técnicas son muy usados. Casi todas las cepas del biovar I son del serovar *b*.

El diagnóstico del serovar capsular es de importancia y se comprueba por reacción de precipitación, hinchazón de la cápsula, aglutinación o inmunofluorescencia.

Por último, recordaremos que la demostración de *H. influenzae* en el árbol respiratorio superior puede no ser índice de infección y la demostración de anticuerpos séricos frente al polisacárido capsular tiene más valor epidemiológico que diagnóstico.

Tratamiento

El antibiótico de elección en todas las localizaciones es la ampicilina. Sin embargo, a partir de 1974 aparecen cepas (5-25 %) resistentes a ella por la elaboración de β-lactamasas, tipo TEM, codificadas por plásmidos R; posteriormente se han descrito también cepas resistentes al cloranfenicol y cepas con resistencia múltiple transferible. Pese a ello, se recomienda, en el momento actual y en espera de antibiograma, el comenzar el tratamiento de los cuadros graves (meningitis, sepsis y epiglotitis) con ampicilina y cloranfenicol, por su buena difusión y actividad. Otra asociación muy utilizada en endocarditis y neumonías es ampicilina y un aminoglicósido, del tipo de la estreptomicina o gentamicina. Otros antibióticos, como cefalexina, cefotaxima, cefuroxima y moxalactam, son utilizados siempre en relación con el estudio de la sensibilidad *in vitro* o la detección por procedimientos ultrarrápidos de β-lactamasas, aunque se han descrito cepas ampicilín-resistentes no productoras de estas enzimas.

En los casos en que sea necesario, a este tratamiento etiológico se añadirá el sintomático y el de base de un proceso subyacente.

Inmunidad y vacunas

La inmunidad a las infecciones por *H. influenzae* está ligada a la presencia de anticuerpos frente al polisacárido capsular (PRP), que parecen ser bactericidas, pues favorecen la opsonización y fagocitosis. Esto explicaría la aparición en edades tempranas, la transitoriedad del estado de portador y la presencia de casos clínicos en colectividades en que el porcentaje de portadores es más alto de lo normal. Se ha comprobado que la respuesta de anticuerpos tras una infección está relacionada con la edad y es mínima en los niños menores de 2 años, si bien no están aclaradas las causas de este hecho. Por esto la inmunización en los niños de 2-3 años no posee un gran valor.

Sin embargo, al haberse demostrado la relación antigénica con *E. coli*, un grupo de investigadores han conseguido, mediante la colonización intestinal con esta bacteria, aumentar los anticuerpos frente a *H. influenzae* en los primeros años de la vida.

OTROS HAEMOPHILUS

Dentro de las especies de *Haemophilus* citadas al principio del capítulo destacamos las siguientes:

H. aegyptius o bacilo de Koch y Weeks

Es similar al biovar III de *H. influenzae*, pero xilosa-negativo. Da lugar a conjuntivitis agudas o subagudas, muy contagiosas, en las áreas tropicales y subtropicales, y aparece en forma epidémica.

H. ducreyi o estreptobacilo de Ducrey

Ocasiona una enfermedad de transmisión sexual, el chancro blando o chancroide, de 1 a 5 días de período de incubación. A diferencia del chancro sifilítico, es único o múltiple, doloroso, de fondo purulento y no indurado; se afectan los ganglios inguinales, que incluso pueden fistulizarse y expulsar al exterior su contenido purulento. Es autoinoculable. No se han descrito portadores sanos.

H. ducreyi aparece en el exudado del chancro, como cadenas de bacilos gramnegativos (0,6 × 1,2 μm), de coloración bipolar; en los cultivos (con preferencia, agar-sangre de conejo o agar-chocolate) sólo requiere el factor X, crece mejor en atmósfera de CO_2 y da unas colonias débilmente hemolíticas. Es indol, ureasa y ornitín-descarboxilasa negativo.

Existe intradermorreacción (Ito-Reenstierna), que da positiva en los sujetos infectados, recientemente o no. El tratamiento de elección son las sulfamidas, tetraciclinas o los aminoglicósidos, y debe reservarse los β-lactámicos para otros procesos de transmisión sexual.

Bordetella

Concepto y clasificación

Incluido entre los bacilos gramnegativos aerobios estrictos (y por ello, taxonómicamente, alejado de los géneros *Haemophilus* y *Gardnerella*, anaerobios facultativos) se encuentra el género *Bordetella*, formado por cocobacilos de 0,2 × 0,5-2 μm, móviles o inmóviles, capsulados, no esporulados y que se multiplican en las células epiteliales ciliadas del tracto respiratorio. Son parásitos estrictos, ya que no sobreviven fuera de un huésped.

Las especies de este género causan una enfermedad aguda respiratoria, que se denomina tos ferina, coqueluche o pertussis.

Predominantemente infantil, provoca en niños menores de 1 año complicaciones con un muy alto porcentaje de mortalidad.

Tres especies componen el género (tabla 44-2):

1. *B. pertussis* o bacilo de Bordet y Gengou, la más importante.

Tabla 44-2. Caracteres diferenciales de las especies de Bordetella

	B. pertussis	*B. parapertussis*	*B. bronchiseptica*
Movilidad, reducción de nitratos	–	–	+
Ureasa, citrato, crecimiento en agar-MacConkey	NC*	+	+
Oxidasa	+	–	+
Pigmento marrón en agar-peptona	NC	+	–
Antígenos K**	[1], 2, 3, 4, 5, 6, 7, 13	7, 8, 9, 10, (14]	7, 8, 9, 10, 11, (12), 13

*No crecimiento.
**Entre paréntesis se indica el antígeno característico de la especie.

2. *B. parapertussis*, aislada en algunos casos benignos de tos ferina.

3. *B. bronchiseptica*, que también causa cuadros tosferinosos, infecciones de heridas y neumonitis, si bien en relación con animales infectados.

BORDETELLA PERTUSSIS

Estructura antigénica y clasificación en tipos

Cuando se aísla *B. pertussis* de un sujeto enfermo de tos ferina, se obtienen unas colonias lisas, virulentas y de bacilos capsulados, que se designan con el nombre de fase I. Estas cepas poseen un antígeno lipopolisacárido termoestable O y un antígeno superficial K, termolábil, que es responsable de la reacción de aglutinación. Los diferentes tipos de este antígeno se denominan con números arábigos. Todas las cepas de *B. pertussis* en fase I poseen el antígeno 1; la distinción entre serovars se realiza por el 2 y el 3, de tal forma que aparecen tres serotipos fundamentales: 1-2, 1-3 (el más frecuente en EE.UU.) y 1-2-3. Otros factores son menos conocidos, si bien el 7 es común a las tres especies (tabla 44-2). Las colonias en fase II, III y IV serían pasos intermedios de la variación S → R, por pérdida progresiva del antígeno K. Este no posee acción antiinvasora, como los de otras bacterias encapsuladas. Otras sustancias de la bacteria, antigénicas o no, se estudian a continuación.

Acción patógena

La bacteria penetra por medio de gotitas y núcleos goticulares en las vías respiratorias. Aquí se multiplica abundantemente en la superficie del epitelio ciliado seudoestratificado de la tráquea, bronquios y bronquiolos, y aunque no lo invade, quedaría unido a los *microvilli* de las células por los *pili* que posee la bacteria. Esta localización parece que daría lugar, por una parte, a una cilioestasis seguida de una necrosis de muchas células ciliadas y, por otra, a la liberación de las numerosas sustancias tóxicas que elabora *Bordetella*. Esta doble acción ha sido comprobada en inoculaciones experimentales y en células traqueales infectadas *in vitro*.

La lesión de las células ciliadas induciría un aumento de la secreción de moco, que obstruye los bronquiolos terminales y estimula la tos paroxística, y la broncoconstricción, típicas de la enfermedad. La acción tusígena estaría incrementada por la toxina proteica citoplásmica.

Los principales componentes tóxicos de *B. pertussis* descritos en la actualidad son uno citoplásmico y el resto de la pared celular.

1. Toxina proteica termolábil (se destruye a 56 °C, durante media hora) o proteína activadora de los islotes (IAP). Se halla en el citoplasma bacteriano y se libera por lisis celular. Es dermonecrótica, paralizante de los cilios e inflamatoria del epitelio, y coadyuva por esto al cuadro de tos. En animales de experimentación causa convulsiones y muerte.

2. Endotoxina lipopolisacárida termorresistente. Se encuentra en la pared celular y posee hexosa, hexosamina, heptosa, cetodesoxioctanato y lípidos. Su papel no es muy conocido, si bien no es pirógena.

3. Factor inhibidor de la adenilciclasa. Es patente el efecto de algún componente no bien conocido de la bacteria, de inhibir la síntesis del AMP cíclico a partir del ATP.

4. Factor histamín-sensibilizante (HSF). Es termosensible. Se encuentra en la pared celular y parece ser secretado. Su papel no es bien conocido e influye en la hipoglucemia y en el incremento de la sensibilidad a los efectos de la histamina, serotonina y bradiquininas.

5. Factor de proliferación de los linfocitos (LPF). Es la proteína responsable de la patente leucocitosis linfocítica con que cursa la enfermedad. Parece también relacionado con la proteína termosensible del antígeno protector.

6. Factor coadyuvante en la producción de anticuerpos homocitotrópicos, similares a las reaginas humanas del tipo IgE.

7. La toxina neurogénica sería otra proteína de la pared, si bien para muchos autores se trataría del propio factor HSF.

8. El antígeno protector (PA) induciría la inmunidad a la infección y formaría parte de la pared celular.

9. Factor hemaglutinante proteico, en relación con las fimbrias de la bacteria. Actúa sobre hematíes humanos y de diversos animales, y sería responsable de la adherencia bacteriana.

Como puede apreciarse, en el momento actual no se conoce el papel exacto de todos y cada uno de estos componentes, cuyo aislamiento y estudio profundo permitirán un mejor conocimiento de la enfermedad. Muchos autores coinciden en que todas estas actividades biológicas son causadas por una sola sustancia, la toxina de *B. pertussis* o pertusígeno (HSF-LPF-IAP), responsable del cuadro clínico, y que sería una típica exotoxina termolábil (tabla 16-2). Como se comprueba en la figura 44-2, la acción de estas sustancias llevaría a los típicos accesos de tos y a la afectación pulmonar; todo esto favorece una aireación deficitaria, hipoxemia y, junto a la acción neurotropa, las convulsiones de una encefalopatía marcada.

Por otra parte, bronconeumonías secundarias por otras bacterias (cocos grampositivos, *Haemophilus*, etc.) llevan a complicaciones muy graves o mortales, si bien no son muy frecuentes.

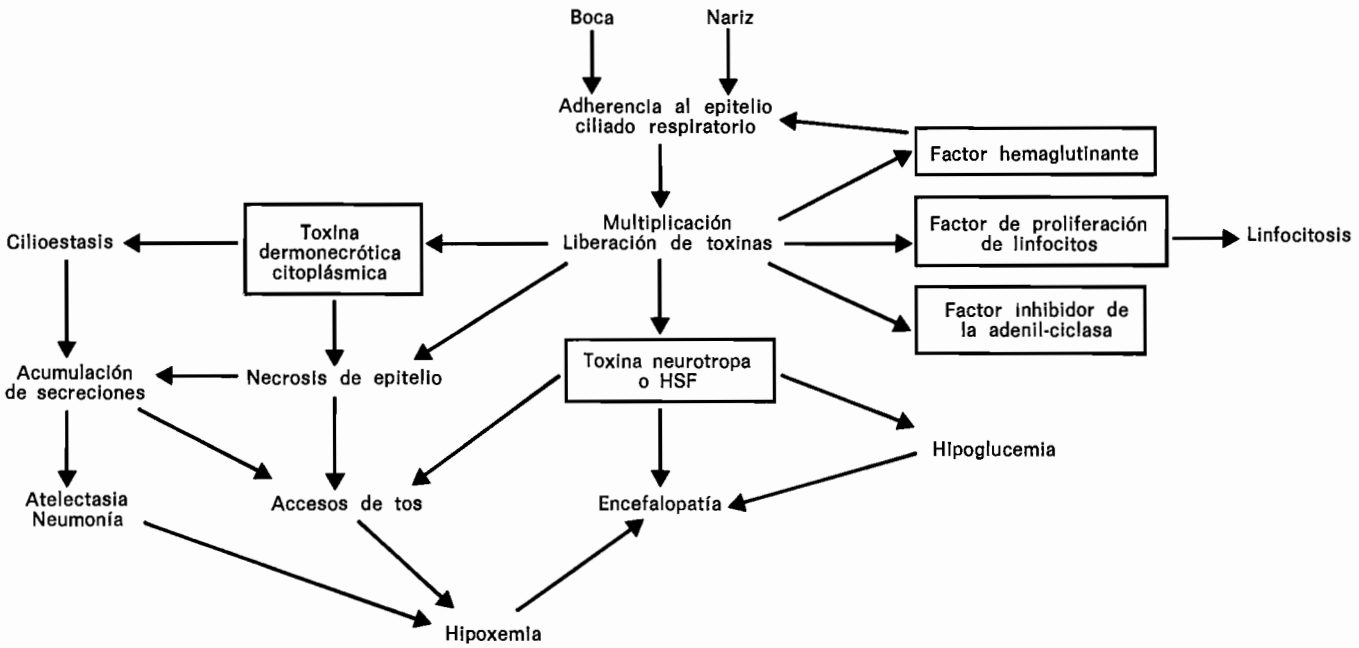


Fig. 44-2. Factores patogénicos en la tos ferina. (Modificado de Olson, 1975.)

Cuadro clínico

Tras un período de incubación de 7 a 14 días a partir del contagio por vía aérea (no parecen existir portadores sanos, pero sí convalecientes), comienzan los síntomas de la tos ferina o coqueluche, que clásicamente se dividen en tres períodos:

Período catarral

Se caracteriza por síntomas de irritación de las vías respiratorias altas: rinorrea, estornudos, tos ligera, conjuntivitis y fiebre no superior a 38 °C. Dura 1 a 2 semanas y, poco a poco, la tos va haciéndose más intensa en frecuencia y duración de los ataques. El sujeto contagia muy fácilmente, por sus secreciones, a los que le rodean.

Período de estado

Es convulsivo o quintoso. Se caracteriza por los típicos ataques de tos, quinta o «canto del gallo». Tras una inspiración profunda se producen varios golpes de tos, el tórax queda fijo en inspiración y bruscamente el niño realiza una inspiración más profunda y sibilante, que semeja el quiquiriquí del gallo. El paciente puede quedar cianótico y con los ojos en blanco; los vómitos son frecuentes y los alimentos desencadenan nuevos accesos, lo que lleva a la desnutrición. A veces hay esputos cargados de *Bordetella*. No hay fiebre alta.

El número de accesos por día es muy variable, de 10 a 50, a veces en pleno sueño. La duración del período es de 4 a 6 semanas, según el tratamiento y la aparición de complicaciones, que pueden ser:

1. Respiratorias: otitis, neumonías, infecciones sobreañadidas, etc.
2. Abdominales o torácicas, como consecuencia de la hiperpresión por los accesos de tos: hernias, prolapso rectal, enfisema mediastínico o subcutáneo, etc.
3. Hemorragias: petequias, epistaxis, o de localización intestinal o meníngea.
4. Nerviosas: convulsiones, afectación de los pares craneales, coma y muerte. Son frecuentes en menores de 10 años.

Período de declinación

El período de declinación o convalecencia se caracteriza por accesos de tos y vómitos que disminuyen, y a las 2-3 semanas el sujeto se recupera totalmente.

Factores predisponentes

La enfermedad afecta más y de forma más grave a niños (de 6 meses a 5 años) que a adultos. La mortalidad en el primer año de la vida es muy alta. La raza negra parece ser más sensible y la aparición de brotes es máxima en invierno, en que surgen cada 3 ó 4 años cuadros epidémicos, por acumulación de susceptibles. Los cuadros aparecen siempre entre contactos cercanos de los enfermos.

Diagnóstico bacteriológico

El cuadro de tos ferina puede estar producido no sólo por las especies de *Bordetella*, sino por adenovirus tipo 1, 2 y 5, otros virus respiratorios e incluso *Mycoplasma*. Por otra parte, cuadros de tos crónica, más o menos en accesos, pueden aparecer en multitud de procesos respiratorios, y cuadros verdaderos de tos ferina pueden estar alterados por el uso incorrecto de antibióticos o en sujetos parcialmente

inmunizados. Por todo ello, el diagnóstico correcto debe basarse en el aislamiento de la bacteria productora, seguido de un estudio serológico que demuestre la respuesta humoral a ella.

Toma de la muestra

Una de las causas más frecuentes del fallo en el aislamiento de *B. pertussis* se encuentra en la toma. Dos son los problemas que ésta plantea: El primero es que se realice en el momento adecuado, es decir, en el período catarral (90 % de éxito) o de estado (50 %); mientras más tarde se efectúe la toma, las posibilidades de aislamiento son menores. El segundo es que se haga por la técnica adecuada. De los cuatro métodos propuestos, la toma con escobillón en la zona nasofaríngea posterior o retronasal (similar al que se verifica en la toma de portadores de *N. meningitidis*) parece dar los mejores resultados. Un alambre delgado y flexible, que contenga en su extremo alginato cálcico, ya que el algodón lleva ácidos grasos bactericidas, se introduce a través de la nariz hasta llegar a la faringe y se mantiene unos segundos en su pared, mientras se provoca la tos.

Otro método es el denominado de la placa de tos y consiste en colocar, a 10-15 cm de la boca, una placa con medio de Bordet y Gengou, en el momento del acceso o quinta de tos. La aspiración de moco bronquial o el escobillón bucofaríngeo dan peores resultados. Los hisopos tomados serán llevados rápidamente al laboratorio, y, en caso contrario, se usará el medio de transporte de Stuart o agar-carbón, ya que la vitalidad de *Bordetella* es escasa, si bien algo mayor que la de *Haemophilus*, pues resiste bien entre 0 y 10 °C.

Examen directo

A partir de los escobillones podría realizarse una observación directa por tinción de Gram o anticuerpos fluorescentes. En la tinción de Gram se observan bacilos gramnegativos, de 0,2 × 0,8-1 μm, aislados o en agrupaciones no características, con tendencia a la coloración bipolar. Una reacción de inmunofluorescencia directa permite un rápido diagnóstico a partir del escobillonaje nasofaríngeo, que en todo caso deberá confirmarse por cultivo posterior.

Microcultivo

Para ello se efectúan extensiones en portas estériles y se cubren con el medio de cultivo. Tras una incubación de 18 horas, se elimina el agar, se sumerge el porta en agua hirviendo y quedan las microcolonias fijadas por el calor. Por último, se tiñen mediante tinción de Gram o anticuerpos fluorescentes.

Cultivo e identificación

Bordetella requiere en su primer aislamiento la presencia de sangre en los medios. De éstos, el más utilizado es el de Border y Gengou modificado, que es un agar-patata-glicerina, con un 20-40 % de sangre desfibrinada y penicilina (0,25 U/ml) o cefalexina (40 mg/l). Algunos autores añaden almidón o carbón, para inhibir los productos tóxicos, del tipo de ácidos grasos insaturados, que se encuentran en el agar y dificultan o inhiben el crecimiento de la bacteria.

Las colonias obtenidas por siembras de los escobillones o en la placa de tos, tras 3-4 días de incubación a 36-37 °C, en aerobiosis y atmósfera húmeda, son pequeñas (0,5 mm), lisas, convexas, cremosas, opacas y con un brillo metálico, que les da un parecido a media perla o pequeñas gotas de mercurio. Estas colonias lisas, de bacterias capsuladas (fase I), pierden la cápsula y pasan a las fases II, III y IV (rugosa).

Las colonias obtenidas por siembras de los escobillones o en la placa de tos, tras 3-4 días de incubación a 36-37 °C, en sangre aparece alrededor de la colonia una estrecha zona de hemólisis. Las colonias obtenidas de estos medios pueden identificarse mediante sueros específicos mediante reacciones de aglutinación o fluorescencia. *Bordetella* se diferenciará de *Haemophilus* por ser aerobio estricto, no fermentar los carbohidratos y no necesitar los factores X ni V. Las diferencias con otros géneros afines se recogen en la tabla 44-3 y las diferencias entre las especies de *Bordetella*, en la 44-2. Los resultados se pueden ratificar mediante la aglutinación con sueros anti-K específicos (1, 12 y 14).

La inoculación experimental en embrión de pollo, ratones o monos no tiene valor diagnóstico, pero sí es útil para conocer mejor la patogenia de la enfermedad.

Diagnóstico inmunológico

La demostración de anticuerpos aglutinantes, fijadores de complemento, precipitantes o fluorescentes puede tener valor diagnóstico retrospectivo, siempre y cuando se demuestre el aumento de su tasa en dos tomas consecutivas separadas. Un test para determinar IgG, IgM e IgA mediante la técnica de ELISA ha demostrado muy buenos resultados en estudios epidemiológicos y de niños vacunados.

Tabla 44-3. Características diferenciales del género Bordetella y otros afines

	Bordetella	*Alcaligenes*	*Brucella*	*Haemophilus*
Parásito estricto	+	−	+	+
Saprofito	−	+	−	−
Aerobiosis estricta	+	−	−	−
Fermentación de carbohidratos	−	−	−	+
Reducción del tetrazolium	+	−	−	+
Crecimiento en telurito potásico	−	+	−	−
Utilización del citrato	v	+	−	−
G + C del ADN (mol %)	66-70	56-70	55-58	38-44

v = Variable según las especies.

Debemos resaltar que en las fases finales del período de estado no se puede aislar *Bordetella* en faringe ni tampoco demostrar anticuerpos. Por esto, como en otros casos, los resultados negativos de ambos métodos no excluyen la infección.

Otros datos de interés

En todos los casos de verdadera tos ferina es patente una alta leucocitosis, a base de linfocitos maduros (factor LPF); la eosinofilia puede ser marcada. La continuación de la leucocitosis, pero con neutrofilia, o la aceleración de la velocidad de eritrosedimentación sugerirán siempre una complicación por otras bacterias.

Los datos radiográficos del tórax son muy orientativos acerca del estado de las lesiones primarias y complicaciones.

Tratamiento

Los antibióticos, a la vista de la patogenia de la enfermedad, no afectan el curso de ésta, pero sí se ha comprobado que, dados muy precozmente, reducen las complicaciones y previenen las infeciones secundarias. La eritromicina, cloranfenicol, ampicilina, tetraciclina y aminoglicósidos, por este orden, son los más recomendados. *B. pertussis* es sistemáticamente resistente a la penicilina y bacitracina.

La γ-globulina antipertussis (30 mg/kg de peso) debe usarse precozmente y en los casos más graves. No parece tener acción alguna curativa, pero sí una acción preventiva muy dudosa. Las opiniones al respecto son contradictorias.

Los corticoides pueden tener valor para la disminución de los accesos de tos, vómitos y gravedad del proceso. Los estimulantes de los receptores β-adrenérgicos dan muy buenos resultados. Los cuidados generales, principalmente cardiorrespiratorios, de los niños enfermos más pequeños serán imprescindibles.

Inmunidad y vacunas

La inmunidad se debe a anticuerpos protectores, si bien se desconoce el valor exacto de la respuesta humoral y celular. Parece que los anticuerpos, del tipo IgG e IgA, impiden la fijación de las bacterias a las células ciliadas; ambos se encuentran en las secreciones respiratorias de los sujetos inmunes.

La inmunidad pasiva de madre a hijo es muy pequeña o nula. Esta falta de protección perdura hasta los 2-3 años de la vida. El padecer la enfermedad confiere una inmunidad relativamente duradera, y a veces se observan infecciones en adultos.

La vacuna se prepara a partir de bacterias en fase I muertas por el formol, fenol o mertiolato; puede usarse precipitada por alúmina. Su grado de protección se mide por el título de anticuerpos aglutinantes en suero.

La protección de la vacuna anticoqueluchoidea es muy discutida. Dependería en primer lugar de su composición. Así, se comprobó en diversos países que era mucho más efectiva al cambiar los serotipos de *B. pertussis* 1,2 que se venían utilizando, por el 1,3; el problema es que el antígeno 3 es débilmente inmunógeno. Por otro lado, el problema se plantea por las enormes diferencias de protección entre unas y otras vacunas disponibles en el mercado. En estudios realizados en el Reino Unido desde 1977 a 1979, en más de 50.000 niños comprendidos entre 0,5 y 2 años de edad, se comprobó el alto grado de protección, la reducción de la tasa de ataque de los contactos hogareños y la benignidad y menor duración de la enfermedad, si es que aparece, en los vacunados.

La vacuna se utiliza asociada a los toxoides tetánico y diftérico (vacuna triple DTP), y está indicada en los meses 3.º, 5.º y 7.º de la vida.

Otro problema de esta inmunización son las complicaciones descritas: fiebre, vómitos, irritabilidad, alteraciones nerviosas diversas, convulsiones, episodios cianóticos y encefalitis graves e incluso mortales. Pese a esto, teniendo en cuenta la mínima incidencia de estos hechos, se considera que las ventajas obtenidas de las vacunas son muy superiores a los inconvenientes y todos los niños a partir de los 3 meses deben ser vacunados, aunque la respuesta inmunológica desarrollada no sea total.

La vacunación deberá ir acompañada del resto de las medidas preventivas: aislamiento de los enfermos, búsqueda y tratamiento de los casos atípicos y de adultos, gammaglobulinoprofilaxis de los contactos cercanos, etc.

OTRAS ESPECIES DE BORDETELLA

B. parapertussis da lugar a cuadros similares a la tos ferina, pero mucho más benignos, descritos fundamentalmente en Europa. *B. bronchiseptica* se aisló en perros y es causa de bronconeumonías en diversos roedores, gatos, cerdos y primates inferiores; en el hombre da muy raramente cuadros coqueluchoideos y neumonitis. Ninguna de las dos especies produce exotoxina proteica.

Desde el punto de vista bacteriológico, ambas especies plantean múltiples problemas de taxonomía, más que de diagnóstico (tabla 44-2). *B. parapertussis* crece en agar-peptona dando un pigmento marrón alrededor de las colonias, por producción de tirosinasa. *B. bronchiseptica* es una bacteria móvil por poseer flagelos perítricos, tiene oxidasa y crece en agar MacConkey y en medios cuya única fuente de carbono es el citrato o el cianuro potásico. En agar MacConkey da unas colonias rojizas, rodeadas por un halo rojo del medio decolorado. Las diferencias con el género *Alcaligenes* se recogen en la tabla 44-3.

BIBLIOGRAFIA

Collier, A. M.; Peterson, L. P., y Baseman, T. B.: Pathogenesis of infection with *Bordetella pertussis* in hamster tracheal organ culture. J. Infect. Dis., 136, 5196-5203, 1977.

Hammond, G. W.; Lean C. J.; Wilt, S. C., y Ronald, A. R.: Comparison of specimen collection and Laboratory techniques for the isolation of *Haemophilus ducreyi*. J. Clin. Microbiol., 7, 39-46, 1978.

Kilian, M.: A taxonomic study of the genus *Haemophilus*, with the proposal of new species. J. Gen. Microbiol., 93, 9-62, 1976.

Kilian, M., y Biberstein, E. L.: *Haemophilus*. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 558-569. Williams and Wilkins, Baltimore, 558-569, 1984.

Lee Hand, W.: *Haemophilus* species. En Mandel, G. L.; Gordon, R., y Bennet, J. E. (dirs.): Infectious Diseases. Wiley, New York, 1979.

Manclark, Ch. R., y Hill, J. C. (dirs.): New Development on Pertussis. Castle House Pub., London, 1980.

Morse, S. I.: Biologically active components and properties of *Bordetella pertussis*. Adv. Appl. Microbiol., 20, 9, 1976.

Norden, C. W.: *Haemophilus influenzae* infections in adults. Med. Clin. North. Am., 62, 363-383, 1978.

Olson, L. C.: Pertussis. Medecine, 54, 427-469, 1975.

Piédrola, G.; Gálvez, R., y Domínguez, V.: Aislamiento y diagnóstico de *Haemophilus ducreyi*, en relación con una epidemia de chancro blando. Laboratorio, 360, 501-514, 1975.

Pittman, M.: *Bordetella*. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1, 388-393. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Robbins, J. B.; Schneerson, R., y Argaman, M: *Haemophilus influenzae* type *b*: disease and immunity in humans. Am. Intern. Med., 78, 259-269, 1973.

Ronald, A. R.; Wilt, J. C., y Albritton, W. L.: *Haemophilus ducreyi*. En Holnes, K. K., y Mardh, P. A. (dirs.): International Perspectives of Neglected Sexually Transmitted Diseases. Hemisphere, Washington, 1983.

Sell, S. H., y Wright, P. F.: *Haemophilus influenzae*. Epidemiology, inmunology and prevention of disease. Elsevier, New York, 1982.

Stewart, G. T.: Vaccination againts whooping cough. Efficacy versus risk. Lancet, 1, 234, 1977.

Todd, J. K., y Bruhn, F. W.: Severe *Haemophilus influenzae* infections. Am. J. Dis. Child., 129, 607-611, 1975.

Wallace, R. J., Jr.: *Haemophilus influenzae* infection in adults: Characterization of strains by serotypes, biotypes and β-lactamase production, J. Infect. Dis., 14, 101-104, 1981.

Capítulo 45

Brucella

Antonio Rodríguez-Torres

CONCEPTO

El género *Brucella* incluye diversas especies bacterianas, que ocasionan en el hombre y en los animales el conjunto de enfermedades conocidas como brucelosis. El término brucelosis es mucho más correcto que las denominaciones que hacen referencia a alguna de sus características clínicas no siempre presentes (fiebre ondulante), a una localización geográfica (fiebre de Malta) o al nombre de algún investigador en este campo (enfermedad de Bang).

La infección por brucelas tiene una distribución prácticamente mundial, si bien existen diferencias geográficas importantes según las especies responsables. Si nos limitamos a las tres especies más importantes, *B. melitensis* es la especie responsable de la inmensa mayoría de los casos en España y la predominante en los países ribereños del Mediterráneo, en Africa y en Centroamérica y Sudamérica. *B. abortus* es el agente principal de la enfermedad en el norte y centro de Europa, y su difusión ha aumentado en Estados Unidos en los últimos años. *B. suis* es relativamente frecuente en diversos estados de Norteamérica.

La brucelosis humana es una consecuencia de la brucelosis animal, puesto que el animal enfermo o infectado es la única fuente de infección para el hombre. Por ello, la lucha frente a la enfermedad humana reposa esencialmente en las medidas de sanidad veterinaria tendentes a la reducción o erradicación de la enfermedad en el ganado.

Desde el punto de vista médico, sanitario y económico, la brucelosis representa un problema de primer orden. La frecuencia de la enfermedad humana, su duración y sus secuelas representan costes directos e indirectos muy altos. Si a esto se suman las pérdidas económicas que ocasiona la brucelosis animal, se comprende que, en los países muy endémicos, como el nuestro, la repercusión económica de esta zoonosis se evalúe en muchos miles de millones de pesetas anuales.

PROPIEDADES BIOLOGICAS Y CLASIFICACION

El género *Brucella* se incluye en la última edición del *Manual de Bergey* en el grupo de cocos y bacilos gramnegativos de afiliación incierta, lo que indica la dificultad de su situación taxonómica.

Las brucelas son pequeños bacilos o cocobacilos gramnegativos inmóviles, cuyo tamaño no excede de 0,6 µm de anchura por 1,5 µm de longitud. Son aerobios estrictos y se desarrollan lentamente en los cultivos. Algunas cepas de *B. abortus* requieren para su crecimiento un 5 a 10 % de CO_2, atmósfera que favorece en general la multiplicación de todas las brucelas. Aunque pueden crecer en medios ordinarios, son bastante exigentes, sobre todo durante el aislamiento; por esto, para su cultivo se usan medios ricos como agar-tripticasa-soja o agar-triptosa, eventualmente suplementados con un 5 % de suero.

En los medios sólidos se producen colonias pequeñas, de unos 2 mm de diámetro, lisas y de color miel, muy características, que no se visualizan bien hasta el 3.er día. Las bacterias del género *Brucella* presentan una tendencia marcada a sufrir la variación lisa-rugosa (S → R). Las colonias rugosas son opacas y granulares. Esta variación comporta importantes modificaciones en la constitución antigénica y en la sensibilidad a los fagos, por lo que todas las pruebas de identificación se deben realizar a partir de colonias en fase lisa. La observación del carácter S o R de un cultivo exige el examen con lupa y luz oblicua. Las especies *B. ovis* y *B. canis* se presentan siempre en fase rugosa.

Las propiedades bioquímicas de las brucelas son poco relevantes. Son catalasa-positivas; en general reducen los nitratos a nitritos y presentan una actividad ureásica de intensidad variable según las especies y cepas; algunas producen SH_2, y su distinto crecimiento en presencia de colorantes se usa en la identificación.

Las brucelas utilizan diversos sustratos hidrocarbonados y aminoácidos a través de un metabolismo oxidativo, que puede estudiarse mediante un método manométrico en aparato de Warburg.

Los cultivos de *Brucella* se lisan por la actuación de diversos fagos, cuyo espectro de actuación es más o menos amplio (fagos Tb, Wb, Bk, R/C).

Las brucelas forman un grupo genéticamente homogéneo de bacterias, cuyo ADN tiene un porcentaje de G + C de 56-58. La homología del ADN de las diferentes especies propuestas, determinada por hibridación, es muy elevada, por lo que se ha sugerido que todas las cepas deberían incluirse en una sola especie, *B. melitensis*, con diversas biovariedades. Sin embargo, existen diferencias sustanciales en cuanto a los huéspedes animales preferentes, distribución

Tabla 45-1. Caracteres diferenciales de las especies del género Brucella y de sus biotipos

Especie	Biotipos	Exig. en CO_2	Prod. de SH_2	Crecimiento en presencia de		Lisis a la DHP por los fagos				Aglutinación con sueros monoespecíficos		
				Tionina[1]	Fucsina[1]	Tb	Wb	Bk	R/C	A[2]	M[2]	R[2]
B. melitensis	1	–	–	+	+	–	–	+	–	–	+	–
	2	–	–	+	+	–	–	+	–	+	–	–
	3	–	–	+	+	–	–	+	–	+	+	–
B. abortus	1	(+)[4]	+	–	+	+	+	+	–	+	–	–
	2	(+)	+	–	–	+	+	+	–	+	–	–
	3[3]	(+)	+	+	+	+	+	+	–	+	–	–
	4	(+)	+	–	+	+	+	+	–	–	+	–
	5	–	–	+	+	+	+	+	–	–	+	–
	6[3]	–	(–)	+	+ o –	+	+	+	–	+	–	–
	9	(–)[4]	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–
B. suis	1	–	+	+	– o +	–	+	+	–	+	–	–
	2	–	–	+	–	–	+	+	–	+	–	–
	3	–	–	+	+	–	+	+	–	+	–	–
	4	–	–	+	(+)	–	+	+	–	+	+	–
B. neotomae		–	+	–	–	±	+	+	–	+	–	–
B. ovis		+	–	+	(+)	–	–	–	+	–	–	+
B. canis		–	–	+	–	–	–	–	+	–	–	+

[1]Concentración de 20 µg/ml = 1/50.000 p/v.
[2]A, anti-*abortus*: M, anti-*melitensis*: R, anti-*rough*.
[3]La tionina a 40 µg/ml permite diferenciar entre *B. abortus* tipo 3, +, y tipo 6, –.
[4](+), la mayor parte de las cepas positivas; (–), la mayor parte de las cepas negativas.

Tabla 45-2. Esquema simplificado de la lisotipia y metabolismo oxidativo de las especies del género Brucella con sus huéspedes preferentes

Especie	Lisis a la DHP por el fago				L-Alanina	L-Asparagina	A. L-glutámico	DL-Ornitina	DL-Citrulina	L-Arginina	L-Lisina	L-Arabinosa	D-Galactosa	D-Ribosa	D-Glucosa	D-Xilosa	i-Eritritol	Huéspedes preferentes
	Tb	Wb	Bk	R/C														
B. melitensis	–	–	+	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	Cabras, ovejas
B. abortus	+	+	+	–	+	+	+	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	Bóvidos
B. suis	–	+	+	–	V	V	V	+	+	+	V	V	V	+	+	+	+	Cerdos (liebres, tipo 2; renos, tipo 4)
B. neotomae	±	+	+	–	±	+	+	–	–	–	–	+	+	±	+	–	+	*Neotoma lepida*
B. ovis	–	–	–	+	±	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Ovejas
B. canis	–	–	–	+	±	–	±	+	+	+	+	±	±	+	+	–	±	Perros

DHP, dosis habitual de prueba; V, variable según los biotipos; ±, variable según las cepas.

geográfica y peculiaridades de la acción patógena, que justifican el mantenimiento de la clasificación actual del género *Brucella* en seis especies, en algunas de las cuales se distinguen diversos biotipos:

B. melitensis (3 biotipos).
B. abortus (7 biotipos).
B. suis (4 biotipos).
B. neotomae.
B. ovis.
B. canis.

La clasificación en especies y biotipos se realiza atendiendo la exigencia de CO_2 para el crecimiento, la producción de SH_2, el crecimiento en presencia de determinadas concentraciones de tionina y fucsina, la constitución antigénica, la sensibilidad a fagos específicos y el estudio del metabolismo oxidativo (tablas 45-1 y 45-2).

Todas las brucelas muestran una moderada sensibilidad a la acción de los agentes externos y se destruyen rápidamente a la temperatura de pasteurización. En el medio ambiente (suelo, estiércol, tejidos), pueden persistir vivas durante 1 a 2 meses. En la leche, por el contrario, mueren en 10 días como consecuencia de la acidificación por otras bacterias; resisten más tiempo en el queso fresco.

CONSTITUCION ANTIGENICA

La constitución antigénica de las brucelas es compleja y aún imperfectamente conocida. Contienen un lipopolisacárido (LPS) en su pared celular, estructuralmente similar a la de otras bacterias gramnegativas, que forma parte de la endotoxina bacteriana. En el LPS se distinguen dos factores antigénicos denominados A y M, presentes en diferentes proporciones en las diversas especies y biotipos, cuando se

presentan en fase lisa. No se han precisado las estructuras del LPS portadoras de las especificidades A y M. La coexistencia de ambos factores antigénicos en la pared celular de una misma cepa supone que un suero anti-*Brucella* obtenido frente a cualquier especie en fase lisa reacciona (p. ej. en aglutinación) con las otras especies. A partir de estos sueros polivalentes, pueden prepararse sueros monoespecíficos anti-A y anti-M. La saturación de un suero anti-*B. melitensis* biotipo 1 con *B. abortus* biotipo 1 permite obtener un suero monoespecífico para el factor M y, a la inversa, obtener un suero monoespecífico para el factor A. Teniendo en cuenta que los diversos biotipos de una misma especie presentan diversas distribuciones de sus antígenos A y M, el comportamiento frente a los sueros anti-A y anti-M no permite la identificación de especie y constituye una prueba más que hay que considerar en el esquema de identificación (tabla 45-1).

Las brucelas que han sufrido la variación S → R pierden los antígenos A y M, y en ellas se pone de manifiesto un antígeno R común a todas las cepas en fase rugosa. Por inyección al conejo se pueden preparar sueros anti-R que aglutinan *B. canis*, *B. ovis* y todas las cepas de las otras especies que se presenten de modo persistente en fase rugosa.

Los factores A y M presentes en las brucelas en fase lisa presentan comunidades antigénicas con los antígenos de superficie de *Yersinia enterocolitica* serotipo 0:9, con *Vibrio cholerae* y, en menor proporción, con *Francisella tularensis*, lo que da lugar a reacciones cruzadas que deben ser tenidas en cuenta en el diagnóstico serológico de la brucelosis y de las infecciones por estos agentes.

En el género *Brucella*, además, se ha descrito un hapteno denominado polisacárido B, frente al cual se demuestran anticuerpos por técnicas de inmunodifusión en el ganado bovino en la fase activa de la infección.

Por último, las brucelas presentan antígenos proteicos en general no ligados a la pared celular. En el curso de la enfermedad humana se demuestra la aparición de anticuerpos por inmunodifusión y, en particular, por contrainmunoelectroforesis frente a estos antígenos proteicos, que parecen estar constituidos por hasta ocho factores diferentes.

ACCION PATOGENA

Patogenia

No se conocen antígenos o estructuras bacterianas determinantes de la patogenicidad de las brucelas, cuyo poder patógeno está muy ligado a su capacidad para multiplicarse en el interior de las células que las han fagocitado.

En la reacción celular que sigue a la infección desempeña sin duda un importante papel la endotoxina, sobre todo en su fracción lipídica.

Las brucelas penetran por la piel macerada o aún intacta y a través de las mucosas, sobre todo digestiva, respiratoria o conjuntival. Desde la puerta de entrada alcanzan los ganglios linfáticos regionales donde son fagocitadas por los polimorfonucleares y macrófagos, que pueden destruirlas terminando en esta etapa la infección. En otros casos, las brucelas pueden sobrevivir y multiplicarse en las células fagocitarias, pasar al torrente circulatorio y provocar una fase bacteriémica, momento en el que suele aparecer la sintomatología de la brucelosis aguda. Con cierta frecuencia, la etapa bacteriémica conduce a la localización de la infección en diversos órganos y tejidos ricos en células reticulohistiocitarias; esto da lugar a la brucelosis focalizada. Las localizaciones más frecuentes son las óseas, articulares, hepáticas, neuromeníngeas y endocárdicas. La lesión anatomopatológica es un granuloma compuesto por polimorfonucleares, linfocitos y células epitelioides y gigantes.

En la infección animal, las brucelas se multiplican preferentemente en la placenta y membranas fetales de las hembras gestantes, predilección que se ha atribuido a la abundancia de eritritol en estos tejidos y que explicaría el aborto epizoótico característico de muchas brucelosis animales. Sin embargo, también existe una multiplicación importante en las glándulas mamarias, que explica la contaminación persistente de la leche de los animales enfermos. En los tejidos placentarios humanos no existe eritritol y no se ha demostrado que la brucelosis produzca abortos.

El desarrollo de una respuesta inmunitaria de base celular en el curso de la infección interviene sin duda en la patogenia de la brucelosis. Sin embargo, los mecanismos inmunopatológicos implicados son imperfectamente conocidos. La focalización en diversos órganos y tejidos y la instauración de la denominada brucelosis crónica están influidas probablemente por la respuesta celular.

El poder patógeno para el hombre de las diferentes especies de *Brucella* no es uniforme. *B. melitensis* es la especie más invasiva y la que produce infecciones más severas; *B. abortus* produce infecciones generalmente más leves, y *B. suis* (en sus biotipos 1, 3 y 4) ocasiona infecciones bastante invasivas con marcada tendencia a localizarse, sobre todo en el hígado y bazo, con supuración y necrosis. Las infecciones por *B. canis* son excepcionales y sólo se han descrito en cuidadores de perros. *B. suis* biotipo 2, *B. neotomae* y *B. ovis* no son patógenas para el hombre.

Inmunidad

La infección por brucelas se caracteriza por su capacidad de multiplicación intracelular y guarda cierto paralelismo con otras infecciones en las que esto ocurre (tuberculosis, infección por *Listeria*).

Los mecanismos celulares inespecíficos, en particular la fagocitosis, desempeñan un importante papel en la defensa del organismo y explican la frecuencia de las infecciones asintomáticas. La actividad macrofágica está aumentada en los animales de experimentación inmunizados; en éstos, las brucelas no se multiplican en los macrófagos o lo hacen en menor proporción. Estos macrófagos activados de forma específica presentan una mayor capacidad para destruir o inhibir la multiplicación de otras bacterias no relacionadas.

En el curso de la infección brucelar se desarrolla un estado de hipersensibilidad retardada, que puede ponerse de manifiesto por intradermorreacción a un extracto antigénico proteico, la melitina, de forma similar a lo que ocurre con la tuberculina en la infección tuberculosa. La intradermorreacción positiva demuestra únicamente un contacto previo con bacterias del género *Brucella*.

La experiencia demuestra que las personas que han sufrido una infección por brucelas presentan cierta resistencia a la reinfección. La instauración de una resistencia especifica no coincide exactamente con el desarrollo de la hipersensi-

bilidad de base celular, pero, como en ésta, los linfocitos T desempeñan el papel más importante de forma directa y en cooperación con las células macrofágicas.

A diferencia de lo que ocurre en la tuberculosis, la infección por brucelas provoca una notable respuesta humoral. Sin embargo, los anticuerpos no parecen desempeñar un papel importante en la resistencia especifica a la infección.

Brucelosis animal

La brucelosis puede ser inoculada experimentalmente a los diferentes tipos de ganado, experiencia que se ha utilizado en el estudio de la enfermedad y de su control. Entre los animales de laboratorio, el cobayo y el ratón se prestan bien a los estudios experimentales.

La infección espontánea por brucelas se ha demostrado en casi todos los mamíferos domésticos y selváticos y en muchas aves, y es especialmente importante en el ganado, sobre todo cabras, bóvidos, ovejas y cerdos. En estos animales, la infección puede cursar de forma asintomática o manifestar una sintomatología, que generalmente se traduce en orquiepididimitis en los machos y mamitis y aborto epizoótico en las hembras. Aunque las diferentes especies de *Brucella* tienen cierta especificidad de huésped, que ya ha sido señalada, conviene recordar que dicha especificidad no es estricta, por lo que es posible una infección del ganado vacuno por *B. melitensis*, de la oveja por *B. abortus*, etc.

Brucelosis humana

La infección humana por brucelas se caracteriza por una sintomatología extraordinariamente polimorfa. Cuadros muy dispares, en particular si incluyen síntomas álgicos o fiebre, pueden corresponder a una brucelosis en evolución. La enfermedad, además, tiene una tendencia marcada a la aparición de recidivas en cierto porcentaje de enfermos, a pesar de un tratamiento correctamente establecido; dichas recidivas suelen ocurrir antes del sexto mes, en general en los tres primeros meses. Por otra parte, es frecuente que la infección, bien sea en su evolución o desde el inicio, tienda a focalizarse en un determinado órgano, lo que comporta no pocos problemas diagnósticos y terapéuticos, e implica secuelas que hacen difícil a veces la aplicación de criterios de curación de la enfermedad activa. Por último, en algunos enfermos, las consecuencias de la enfermedad se prolongan durante años, en la denominada «brucelosis crónica», entidad clínica de difícil delimitación con artralgias, parestesias y alteraciones neurovegetativas, cuyo origen en una infección en actividad es muy discutido.

El período de incubación de la enfermedad es de 10 a 20 días y no siempre es fácil de precisar, sobre todo en zonas endémicas.

Está demostrado que muchas infecciones cursan de forma asintomática en el hombre. Este hecho es más frecuente en la infección por *B. abortus*.

La enfermedad puede iniciarse de forma brusca con carácter septicémico o de forma más insidiosa con febrícula o aun sin fiebre.

El período de estado se caracteriza por la presencia de fiebre, que dejada a su evolución presenta una gráfica ondulante y provoca sudoración profusa, algias de diversa localización y estreñimiento. Otros síntomas y signos habituales son la astenia, la esplenomegalia y la hepatomegalia. En alrededor de un 5 % de los casos se presenta una orquiepididimitis, generalmente unilateral, de evolución generalmente benigna.

Desde el inicio de las manifestaciones clínicas o en el curso de la evolución se pueden presentar lesiones focales, cuya mayor frecuencia corresponde a osteoartritis metastásicas (sacroiliacas, intervertebrales, etc.). Entre las complicaciones, no excesivamente frecuentes, pero de enorme gravedad, destacan los cuadros de neurobrucelosis (meningitis, encefalitis, síndromes radiculares) y la endocarditis brucelar de pronóstico ominoso.

DIAGNOSTICO

La sospecha clínica de brucelosis, no siempre evidente ante el polimorfismo de la enfermedad, no es suficiente para el diagnóstico; el uso de métodos de laboratorio es una etapa imprescindible.

Como cualquier otra enfermedad infecciosa, los métodos de laboratorio se incluyen en dos grandes grupos:

1. *Diagnóstico directo o bacteriológico*, que consiste en la demostración, aislamiento o identificación del microorganismo causal.
2. *Diagnóstico indirecto*, que comprende la búsqueda de anticuerpos específicos (diagnóstico serológico).

En la brucelosis es altamente deseable obtener el aislamiento del agente causal, método de absoluta certeza diagnóstica, que, además, permite conocer la especie responsable y determinar el biotipo, lo que tiene gran importancia epidemiológica.

Diagnóstico bacteriológico

Las brucelas pueden aislarse de muy diversos productos patológicos, pero el método de elección es el *hemocultivo*. El aislamiento en otros líquidos orgánicos, derrames, pus y LCR tiene interés en ciertas manifestaciones localizadas de la enfermedad.

La brucelemia es más constante en las primeras fases de la enfermedad, sobre todo en las presentaciones agudas, y menos en las formas de evolución crónica, en las que las brucelas se hallan acantonadas en el bazo, hígado, medula ósea, etc. y pasan al torrente circulatorio de forma intermitente.

En la fase aguda de la enfermedad, la positividad del hemocultivo es la regla. En otros estadios, los porcentajes de positividad citados por los diferentes autores varían en función de las condiciones (número de hemocultivos, tiempo de evolución, etc.); en cualquier caso, las posibilidades de obtener un hemocultivo positivo son altas.

Cuando mediante el cultivo de sangre de un enfermo sospechoso se aísla *Brucella*, el diagnóstico es inequívoco, aunque los otros procedimientos ofrezcan resultados dudosos. Por el contrario, un hemocultivo negativo no excluye la enfermedad.

La presentación de temperatura y sus oscilaciones son independientes de la brucelemia. En consecuencia, aunque es preferible practicar el hemocultivo en la fase febril, no debe dejar de practicarse si el enfermo está apirético.

El hemocultivo debe practicarse antes de comenzar el tratamiento antibiótico y, si esto no fue posible, se suspende la administración de antimicrobianos durante 48 horas. En general es suficiente la práctica de un hemocultivo (5-10 cm). En los procesos de evolución crónica estará indicada la práctica de tres hemocultivos a intervalos de 30 minutos.

Las brucelas crecen muy lentamente, por lo que los cultivos deben incubarse durante un tiempo no inferior a 30 días y preferiblemente durante 45 días. En nuestra experiencia, ningún hemocultivo ha sido positivo antes del 4.º día, la mayoría lo fueron entre el 7.º y el 21.º días y un 2 % resultaron positivos después del 27.º día.

El método de Castañeda, en el que la sangre se siembra en un frasco con medio líquido y medio sólido, es el procedimiento de elección por su facilidad para las resiembras y su seguridad frente a las contaminaciones tanto del propio medio como del personal. Para el aislamiento de diversos biotipos de *B. abortus*, es altamente recomendable que el medio incorpore un 10 % de CO_2 o se incube en estufa con dicha atmósfera.

La identificación de las brucelas aisladas se realiza sobre la base de las características señaladas en las tablas 44-1 y 44-2. Si el diagnóstico presuntivo es fácil, el de certeza de especie y biotipo puede requerir la aplicación de técnicas como la fagotipia o el estudio del metabolismo oxidativo, que hacen aconsejable el envío de la cepa a un centro de referencia.

Diagnóstico serológico

Las técnicas serológicas y variantes que se han empleado para la demostración de anticuerpos específicos anti-*Brucella* son innumerables. Este mismo hecho supone que no existe ninguna prueba serológica que por sí sola resuelva los problemas que plantea el diagnóstico serológico de la brucelosis.

En el momento actual, el diagnóstico serológico de la brucelosis, en la práctica, reposa en las pruebas de seroaglutinación, de Coombs anti-*Brucella* y de rosa de Bengala. Otras pruebas, como la fijación del complemento y aglutinación con 2-mercapto-etanol, pueden tener un interés complementario. Por último, existen diversas pruebas, aún en el terreno experimental o no comercializadas, como la hemaglutinación pasiva, el radioinmunoanálisis y, sobre todo, ELISA, cuya aplicación parece extraordinariamente prometedora.

Las pruebas serológicas habituales se realizan con bacterias enteras y, por ello, detectan anticuerpos (IgM, IgG o IgA) frente a los antígenos del LPS. La respuesta serológica es similar, sea cual fuere la especie de *Brucella* causal, es decir, las pruebas serológicas no pueden discriminar la especie responsable.

Reacción de seroaglutinación

Es la prueba utilizada más ampliamente. Sigue teniendo un gran valor y es de realización sencilla. Su práctica, sin embargo, requiere el empleo de antígenos de calidad, preparados de forma rigurosa en fase lisa y adecuadamente estandarizados. La existencia de un II suero patrón internacional de referencia permite al laboratorio comprobar los antígenos aglutinantes y expresar los resultados en unidades; esta expresión, no obstante, no se ha generalizado entre nosotros.

La seroaglutinación es bastante específica, por lo que los títulos positivos indican un contacto previo con brucelas, pero la definición del título significativo de infección brucelar activa tropieza con serias dificultades. Un título de 1/80 en medio urbano o en zona no endémica, en ausencia de historia previa, es altamente indicativo de brucelosis. En las zonas rurales endémicas, la interpretación debe ser más cauta.

En la fase aguda de la enfermedad, la seroaglutinación ofrece en general títulos altos ($\geqslant$ 1/320). Es relativamente frecuente la observación de un fenómeno de prozona, con negatividad de la reacción con el suero poco diluido y positividad en diluciones más altas. Las brucelosis de evolución crónica muestran con mucha frecuencia títulos bajos o negatividad de la reacción. En estos enfermos existen abundantes anticuerpos no aglutinantes detectables por la prueba de Coombs.

En el curso de la evolución y tras el tratamiento, la aglutinación tiende a negativizarse en un plazo de alrededor de 1 año. Sin embargo, este hecho no es constante, y en los ambientes endémicos pueden persistir títulos residuales positivos durante más tiempo. En virtud de este hecho, en ausencia de sintomatología clínica, el mantenimiento de títulos no justifica la realización de nuevas series de tratamiento.

Prueba del rosa de Bengala

Es una prueba rápida de aglutinación en placa, que se introdujo para el despistaje de la enfermedad en los animales. El antígeno es una suspensión de brucelas, en tampón de lactato a pH 3,6, teñidas con rosa de Bengala. Cuando se usa en el diagnóstico de la brucelosis humana, tiene una correlación casi absoluta con la seroaglutinación. Es, por consiguiente, extraordinariamente útil como prueba rápida de *screening*.

La negatividad de la seroaglutinación y del rosa de Bengala no excluye una brucelosis. Más de un 30 % de las brucelosis presentan estas pruebas negativas.

Prueba de Coombs anti-Brucella

Permite la demostración de anticuerpos no aglutinantes. Es una técnica de realización más compleja que la seroaglutinación e igualmente específica. El título ha de ser como mínimo el de la aglutinación y, generalmente, es mucho más elevado (más de 4 veces y hasta 100 veces). La prueba de Coombs muestra títulos altos en las brucelosis de evolución crónica, en las que con mucha frecuencia las otras pruebas son negativas o muestran títulos bajos.

En resumen, la práctica de la seroaglutinación y la prueba de Coombs en forma combinada permiten en general el diagnóstico. La negatividad de ambas pruebas, salvo en los primeros días de la enfermedad, excluye la brucelosis. En los enfermos con infecciones por *Yersinia enterocolitica* serotipo 0:9 y en los sujetos vacunados frente a *V. cholerae* pueden existir reacciones serológicas positivas por la comunidad antigénica entre estas bacterias.

Cabe señalar, por último, que no existen criterios definidos de curación de una brucelosis exclusivamente serológicos. La interpretación del descenso de los títulos debe hacerse de acuerdo con la desaparición de la sintomatología clínica.

TRATAMIENTO

Las brucelas se muestran sensibles *in vitro* a buen número de antimicrobianos: tetraciclinas, cloranfenicol, rifampicina, trimetoprim y prácticamente todos los aminoglicósidos. Son, en cambio, resistentes a los antibióticos β-lactámicos, con alguna excepción, como la ampicilina.

La aparición de resistencias a los antibióticos es rara en el género *Brucella*, en el que no se han descrito plásmidos ni se ha demostrado el fenómeno de transducción.

La antibioterapia en la brucelosis es bastante eficaz en los cuadros agudos y focalizados, y muy poco efectiva en los cuadros de larga duración cronificados.

En la elección del tratamiento antimicrobiano se deben preferir los fármacos dotados de una buena penetración intracelular, como las tetraciclinas. Existe, por otra parte, acuerdo general en que la asociación de dos antibióticos ofrece mejores resultados que la monoterapia.

En la práctica, la terapéutica más eficaz es la asociación de una tetraciclina (en forma de base o semisintética, como la doxiciclina) a la estreptomicina. Esta última se administra a 1 g diario sólo durante 15 días, y la dosis de tetraciclina se prolonga durante 45 días. En caso de recaída, la repetición del tratamiento conduce a la curación de la mayoría de los casos.

Se ha preconizado también el tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol, que en tratamientos cortos es inferior a la asociación tetraciclina-estreptomicina, por lo que su administración debe prolongarse durante 3 a 6 meses. Otra terapéutica que se ha utilizado con buenos resultados es la administración de rifampicina asociada a tetraciclina.

EPIDEMIOLOGIA

La brucelosis es una típica zoonosis, en la que el hombre es un huésped accidental. La infección humana representa un fallo en la cadena epidemiológica, puesto que el contagio interhumano, si existe, es excepcional.

En España, la máxima importancia como fuente de infección corresponde al ganado caprino y ovino; mucho menor responsabilidad en la infección humana parece tener el ganado bovino y, aún menor, el de cerda.

La brucelosis humana es una enfermedad *profesional*, a la que están especialmente expuestas las personas que deben relacionarse con el ganado, como pastores, veterinarios, matarifes, etc. Por otra parte, la manipulación en el laboratorio de las brucelas es extraordinariamente peligrosa, y la infección accidental con frecuencia es sumamente severa, sobre todo con *B. melitensis*. La enfermedad es de declaración obligatoria.

La transmisión de la brucelosis se produce por dos mecanismos claramente definidos, por contagio directo, mediante contacto, inoculación o inhalación, o por vía indirecta, mediante la ingestión de productos lácteos contaminados. La intervención de uno u otro de estos mecanismos en la génesis de cada caso depende de factores ocupacionales, de que el caso se haya producido en el medio urbano o rural, del grado de saneamiento alimentario existente, etc.

El *contacto* con materiales infectados (abortones, placentas, estiércol, etc.) es probablemente el mecanismo principal. Las brucelas penetran a través de la piel sana o macerada y de las mucosas. En la limpieza de establos y apriscos se producen auténticos aerosoles cargados de brucelas, que pueden infectar por *inhalación*. La *inoculación* accidental es especialmente importante en los profesionales (veterinarios, matarifes). La infección accidental en el laboratorio puede producirse por cualquiera de estos mecanismos directos.

La *ingestión* de la leche cruda o productos lácteos no higienizados representa todavía un importante mecanismo en algunas zonas de nuestro país. Los casos que se producen en el medio urbano tienen en general este origen. El queso fresco, no curado, de procedencia casera y, en consecuencia, no sometido a control sanitario es el principal vehículo de este contagio indirecto. La ingestión de carne contaminada no es un mecanismo importante de transmisión, ya que la cocción destruye las brucelas.

PROFILAXIS

La prevención de la brucelosis humana sólo es posible a través de una adecuada lucha contra la enfermedad en los animales. Esta lucha, que debe ser planificada y organizada por los servicios veterinarios, se basa en el despistaje de los animales enfermos, la segregación o eliminación cuando esto es posible, la vacunación y la aplicación de estrictas normativas que impidan el trasiego de animales brucelósicos. Todo esto se completa con el saneamiento de los productos de origen animal, muy especialmente la higienización de la leche, queso y otros productos lácteos.

Existen dos vacunas con brucelas vivas atenuadas de amplio uso en el ganado. La vacuna con *B. abortus* cepa B19 se utiliza en los bóvidos con excelentes resultados. En las ovejas y cabras se prefiere la vacunación con *B. melitensis* cepa Rev.1. Las campañas con ambas vacunas requieren una cuidadosa planificación y seguimiento de los resultados.

La profilaxis de disposición sobre el hombre no ha tenido especial interés hasta el momento. La búsqueda de una vacuna para uso general no parece en absoluto justificada. Sin embargo, una vacuna frente a la brucelosis podría ser altamente aconsejable para el personal profesionalmente expuesto, en aquellas áreas en las que la lucha contra la enfermedad animal tropieza con dificultades para su erradicación. Entre las diferentes vacunas para uso humano que han sido propuestas, merecen destacarse los resultados alentadores, pero no concluyentes, señalados con cepas atenuadas de *B. abortus* y con fracciones antigénicas de *B. melitensis*.

BIBLIOGRAFIA

Alton, G. G.; Jones, L. M., y Pietz, D. E.: Las técnicas de laboratorio en la brucelosis. Serie de monografías, n.º 55. 2.ª ed. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 1976.

Corbell, M. J.; Gill, K. P. W., y Thomas, E. L.: Methods for the identification of Brucella. Central Veterinary Laboratory, Weybridge, 1978.

Foz, A.: Diagnóstico serológico de la brucelosis humana. En Guía práctica de diagnóstico de la brucelosis humana, 55-112. Sever Cuesta, Valladolid, 1977.

Foz, A.: Brucelosis. En Foz, A.; Drobnic, L., y Gudiol, F. (dirs.): Patología infecciosa básica. Enfermedades bacterianas, 270-284. Medicine-IDEPSA, Madrid, 1981.

Martínez Navarro, J. F.; Fuentes, L.; Catalá, F. J.; Rabadán, A., y Nájera, E.: Estudio epidemiológico de la brucelosis en España. Rev. San. Hig. Púb., 52, 1177-1230, 1978.

Rodríguez Torres, A.; Landínez, R., y Hernández Mejía, R.: Diagnósdiagnóstico de la brucelosis humana, 13-51, Sever Cuesta, Valladolid, 1977.

Rodríguez Torres, A., y Fermoso, J.: Brucelosis. Enfermedades infecciosas (V), 76, 3165-3177, Medicine-IDEPSA. Madrid, 1987.

Roux, J.: Epidémiologie et prévention de la brucellose. Bull. WHO, 57, 179-194, 1979.

Spink, W. W.: The nature of brucellosis. The University of Minnesota Press, Minneapolis, 1956.

World Health Organization: A Guide to the diagnosis, treatment and prevention of human brucellosis. Elberg, S. S. (dir.). Documento VPH/81.31. Ginebra, 1981.

Capítulo 46

Actinomyces y Nocardia

José Angel García-Rodríguez

Actinomyces

Los *Actinomyces*, en sentido amplio, han sido para los taxonomistas un grupo extraño de microorganismos. Durante muchos años considerados como hongos y estudiados en los tratados de micología, en la actualidad se consideran auténticas bacterias, entre otras razones porque no tienen membrana celular, el diámetro de sus hifas es inferior al de las de los hongos y son sensibles a los antibióticos antibacterianos y resistentes a los antifúngicos.

CLASIFICACION Y CARACTERISTICAS

El género *Actinomyces* incluye 12 especies, de las que solamente la mitad son patógenas para el hombre. De éstas, la más importante es *A. israelii*. Las otras cinco especies responsables de cuadros clínicos en el hombre son *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus*, *A. meyeri* y *A. pyogenes*.

Morfología y tinción

Son bacilos grampositivos, no esporulados y pleomorfos. Las formas bacilares se suelen agrupar en empalizada o letras chinas, como las corinebacterias. Las formas filamentosas, rectas o incurvadas son ramificadas y suelen presentar abombamientos en su soma.

In vivo, pero no *in vitro*, además de la forma mencionada, dan lugar a un elemento característico, «el grano de azufre»: cuando existen abundantes elementos en los tejidos inflamados, secretan una sustancia polisacárido-proteica que une los filamentos, y se forma una partícula homogénea, macroscópica y de color amarillo, que es el mencionado grano.

Son inmóviles, no esporulados y no ácido-alcohol-resistentes.

Composición química

La diferenciación del género *Actinomyces* de otros géneros se ha llevado a cabo por estudios de la composición química, y se ha llegado a la conclusión de que los miembros de este género tienen un glicopéptido típico, con lisina, sin ácido diaminopimélico y sin arabinosa. Los peptidoglicanos del género *Actinomyces* pueden clasificarse en tres tipos.

El primer tipo de mureína se encuentra en una especie no patógena, en *A. bovis*. Este peptidoglicano está constituido por Lys-Lys-D-Asp con L-lisina en posición 3 del tetrapéptido y L-lisina y ácido D-aspártico en el puente interpeptídico.

El segundo tipo tiene una estructura de Lys-Ala-Lys-D-Glu con L-lisina en posición 3 del péptido y L-alanina, L-lisina y ácido D-glutámico como enlace. Este tipo de peptidoglicano es el que posee *A. pyogenes*.

A. israelii, *A. viscosus*, *A. naeslundii* y *A. odontolyticus* tienen peptidoglicano del tercer tipo. En estas especies, la composición es muy característica y no se encuentra en ningún otro tipo de bacterias: ácido murámico, glucosamina, alanina, ácido glutámico, lisina y ornitina, con la proporción molecular, 1:1:2:2:1:1, y existe un puente de unión glutamil-ornitina entre el ácido glutámico y la D-alanina.

Tipo respiratorio

Los miembros del género *Actinomyces* han sido considerados por diversos autores como anaerobios estrictos, anaerobios facultativos y microaerófilos. Este confusionismo resulta de las múltiples definiciones de estos términos, variaciones en métodos y condiciones, e interpretación de las pruebas utilizadas para determinar los requerimientos de oxígeno.

A. bovis y *A. israelii* son anaerobios, y este último es menos aerotolerante que el primero. *A. naeslundii*, *A. viscosus* y *A. odontolyticus* son anaerobios facultativos.

Se ha comprobado que *A. bovis*, *A. israelii*, *A. naeslundii* y *A. viscosus* precisan CO_2 para crecer en anaerobiosis. Todas las especies, excepto *A. naeslundii*, precisan CO_2 para crecer en atmósfera de aerobiosis y *A. odontolyticus* no precisa CO_2 para crecimiento en anaerobiosis ni en aerobiosis.

Composición antigénica

Aunque se utilizan diversas técnicas para el diagnóstico serológico (inmunodifusión, inmunofluorescencia y agluti-

nación), se conoce poco acerca del número de antígenos y su localización a nivel celular.

Los antígenos parecen estar tanto en la pared como en el citoplasma y algunos se encuentran en el sobrenadante de los medios de cultivo.

La mayor parte de las especies contienen al menos dos serovar. Aunque existen reacciones cruzadas entre algunas especies o serovar, todo parece indicar que hay antígenos específicos de especie y tipo.

ACCION PATOGENA

Ecología

Las especies de los géneros *Actinomyces*, *Bacterionema*, *Arachnia* y *Rothia* suelen encontrarse en la cavidad oral del hombre y animales. Sin embargo, ninguno de estos microorganismos ha sido considerado flora normal del conducto intestinal humano.

A. israelii se ha aislado en algunas ocasiones de heces, pero se ha considerado como aislamiento transitorio. *A. bovis* no se ha obtenido del hombre, por lo que su reservorio habitual sería animal. *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus* y *A. odontolyticus* se encuentran en la cavidad oral del hombre, y se consideran agentes responsables de infecciones.

A. odontolyticus y *A. naeslundii* no se han aislado de animales, pero *A. israelii* y *A. viscosus* se han considerado responsables de infecciones en ellos.

Patogenia

Los *Actinomyces* no producen toxinas o factores antifagocitarios. Sí poseen, aunque en escaso número, enzimas proteolíticas. La supervivencia de estos gérmenes está determinada por la capacidad de formar filamentos (dificulta la fagocitosis), la formación de granos de azufre (dificulta la fagocitosis e impide la penetración de los antibióticos en la lesión) y la existencia o no de elementos nutritivos.

Algunas especies poseen mecanismos de adherencia a superficies duras y células epiteliales que les permiten, además, formar agregados con otras bacterias y aglutinar hematíes. Esta propiedad de adherencia parece estar relacionada con la capacidad de producción de dextrano y levano, así como con la existencia de fimbrias.

Se conocen algunos datos acerca de la participación de estas bacterias en la caries dental y en la enfermedad periodóntica.

El género *Actinomyces* participa en la formación de la placa dental por dos mecanismos: se adhiere a la capa de sales proteicas de la superficie de los dientes y, además, mediante la filamentación proporciona una amplia superficie para que se adhieran otros microorganismos. Se forma así una población microbiana estable, que contribuye a la aparición de caries debido a la producción de ácidos por fermentación de carbohidratos.

La lesión periodóntica es consecuencia de la actuación del complemento. Se ha comprobado que el polisacárido de algunos *Actinomyces* puede activar el complemento, lo cual produce, por tanto, una liberación de factores quimiotácticos y migración de fagocitos. Como consecuencia de la liberación de enzimas lisosómicas por éstos, aumenta la reacción inflamatoria y aparecen las lesiones periodónticas.

El principal mecanismo de defensa del organismo frente a la infección anaerobia endógena es el potencial de oxidorreducción (Eh) de los tejidos. Si el Eh es normal, los anaerobios son incapaces de multiplicarse y lesionar los tejidos. Cualquier factor que disminuya el Eh potencial hace que estas bacterias se multipliquen e invadan los tejidos subyacentes. Entre estas causas destacan las extracciones dentarias, pequeños traumatismos de boca (que originan pequeñas áreas necróticas) e infecciones por otras bacterias aerobias o anaerobias.

El incremento de la actinomicosis en las personas que tienen el hábito de masticar paja o palillos es el resultado de los microtraumatismos gingivales y no una infección exógena vehiculada por estos elementos.

Manifestaciones clínicas

Los cuadros más frecuentes producidos por estas bacterias pueden recogerse en cinco apartados: actinomicosis, infecciones oculares, enfermedad periodontal, caries e infecciones intrauterinas.

La actinomicosis es una enfermedad crónica, con lesiones granulomatosas, caracterizada por la existencia de supuración, formación de abscesos y fistulización. Clínicamente, la localización del proceso se produce a nivel cervicofacial, torácico o abdominal, aunque el proceso puede afectar otras zonas del organismo.

Los principales agentes productores de actinomicosis son *A. israelii*, *A. viscosus*, *A. naeslundii* y *A. odontolyticus*. Sin lugar a duda, *A. israelii* es el más frecuente, pero no debe descartarse la posible etiología múltiple de estos cuadros, como es lo común en las afecciones producidas por gérmenes anaerobios. *Arachnia propionica* y *Bifidobacterium dentium*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, etc. pueden actuar sinérgicamente en estos cuadros clínicos.

Actinomicosis cervicofacial

Es un cuadro subagudo o crónico, cuyo comienzo puede pasar inadvertido hasta que se observa una lesión inflamatoria que se localiza a nivel parotídeo o en la región mandibular. Posteriormente se originan unas fístulas por las que se elimina un exudado espeso, seroso y amarillento, en el que pueden encontrarse los típicos «granos» o «gránulos de azufre».

Rara vez existe afectación linfática regional, pero la infección puede diseminarse por contigüidad o vía hemática.

Las zonas anatómicas que se afectan de forma primaria son las siguientes: mejillas, cuello, región parotídeomasetérica, regiones submandibular, retromandibular, hueso mastoides, senos, glándula parotídea, tiroides, lengua, labios y orejas, etc.

En los antecedentes se consigna siempre: caída de dientes o extracción dental, fractura de mandíbula o en general algún tipo de traumatismo. Básicamente, cualquier circunstancia que rompa el epitelio puede proporcionar tejidos desvitalizados, en que las condiciones de anaerobiosis pueden permitir el desarrollo de los *Actinomyces*.

La sintomatología clínica aparece rápidamente: dolor (a veces no existe), *trismus* de maseteros, hinchazón, fístulas y exudado amarillento.

Actinomicosis torácica

Se produce por uno de estos mecanismos:

1. Inhalación o aspiración de los *Actinomyces* presentes en la cavidad oral.
2. Llegada de los microorganismos a pulmón, arrastrados por cuerpos extraños.
3. Diseminación hematógena.
4. Extensión de actinomicosis cervicofacial al mediastino o de actinomicosis abdominal por perforación del diafragma.

La primera lesión puede estar en los bronquios, en el tejido peribronquial o en el parénquima pulmonar. La enfermedad progresa por contigüidad de lóbulo a lóbulo, formando múltiples abscesos. La afectación puede extenderse al corazón y pleura, la cual se engruesa y fibrosa, aunque no suele producirse empiema. En ocasiones, la extensión de las lesiones puede llegar a pared torácica, y se producen fístulas que curan, pero a veces pueden volver a abrirse. En los exudados eliminados por estas fístulas pueden observarse, igual que en el esputo, los típicos «granos de azufre».

Las formas clínicas más frecuentes son la broncoactinomicosis, la pleuroactinomicosis y la neumoactinomicosis. La sintomatología más común comprende: fiebre, tos productiva y pérdida de peso. Las hemoptisis son infrecuentes. Desde el punto de vista clínico, la actinomicosis puede confundirse con tuberculosis, abscesos o carcinoma pulmonar. En ciertos casos puede ser necesaria una toracotomía exploratoria para realizar un diagnóstico diferencial.

Actinomicosis gastrointestinal

Posiblemente sea debida a la llegada de *A. israelii* por deglución hasta el intestino, lo que origina una masa inflamatoria. Las lesiones se desarrollan fundamentalmente en la región ileocecal y con menos frecuencia en el área gástrica o anorrectal. La mayor parte de las veces existe una historia previa de apendicitis. Suele existir dolor abdominal, fiebre y masa abdominal palpable. En ocasiones, la enfermedad se diagnostica cuando persiste el drenaje después de la evacuación quirúrgica de un absceso apendicular.

La actinomicosis ileocecal puede confundirse clínicamente con tuberculosis, enteritis regional, cáncer y apendicitis. En las formas anorrectales se produce fistulización y aparecen los «granos de azufre» en el exudado. Las formas gastrointestinales pueden propagarse directamente al riñón u otros órganos pélvicos.

Formas menos frecuentes

A veces originan dacriocistitis, conjuntivitis, caries y periodontitis e infecciones uterinas. La actinomicosis del cerebro suele ser resultado de bacteriemias. *A. israelii* también se ha aislado, junto con estreptococos anaerobios y *Bacteroides* spp., en abscesos cerebrales originados a partir de focos en el oído medio, senos y pulmón. La actinomicosis ósea se produce principalmente en la mandíbula y vértebras, causando periosteítis u osteomielitis. La osteomielitis mandibular puede quedar confinada al hueso, cavitarse o fistulizarse al exterior. La actinomicosis vertebral generalmente es una complicación de la actinomicosis torácica o abdominal.

El hígado puede ser invadido por vía portal desde el intestino, extensión directa de un foco de abdomen o tórax, o como consecuencia de bacteriemias. La lesión es un granuloma supurado, que se adhiere a la pared abdominal o diafragma y después se fistuliza. La actinomicosis renal es el resultado de una bacteriemia o una propagación desde la fosa iliaca. La actinomicosis de los órganos pélvicos femeninos se origina a partir de la región ileocecal y es rara.

La septicemia actinomicótica suele tener su origen en el foco pulmonar. La bacteriemia puede durar meses y producir fiebre, malestar, anorexia y pérdida de peso. Como consecuencia de ella pueden surgir focos metastásicos a distancia.

A. israelii también puede ser responsable de micetomas.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Examen microscópico

Consiste en examinar el exudado para detectar la presencia de «granos de azufre», previa dilución de aquél en agua destilada. Después de agitar, se mantiene un tiempo en reposo. Si existen «granos de azufre», éstos se depositarán en el fondo.

En estos «granos», aplastados entre dos portaobjetos y teñidos por el colorante de Gram, se observa la presencia de filamentos grampositivos, rodeados de unas acumulaciones que se distribuyen normalmente en forma radial y son gramnegativas. Pueden utilizarse técnicas modificadas de la tinción de Gram.

Cultivos

El triturado de los «granos de azufre» entre dos portas estériles, previa dilución en caldo glucosado estéril, debe sembrarse en medios de cultivo e incubarse en anaerobiosis. Se observará microscópicamente en la superficie de las placas a los 2 días de incubación la presencia de microcolonias características. A los 5-12 días, las colonias están completamente desarrolladas.

Los estudios de la morfología de las colonias, micro o macrocolonias, de las diferentes especies del género *Actinomyces* han servido para diferenciar las especies. Así, *A. bovis* y *A. odontolyticus* producen microcolonias no filamentosas, de bordes nítidos y regulares, con una pequeña condensación en la parte central. *A. israelii*, *A. naeslundii* y *A. viscosus* suelen dar lugar a colonias filamentosas.

El tamaño de las colonias de *A. bovis* es de 0,5-1 mm de diámetro. Son redondas, de superficie lisa o ligeramente granular, convexas y de aspecto blanquecino. Algunas cepas producen colonias rugosas, precisamente aquellas que presentan microcolonias filamentosas.

Las colonias desarrolladas de *A. israelii* son muy variables en su aspecto, si bien las más típicas son rugosas, de

0,5-1 mm de tamaño, con bordes irregulares y de aspecto de pieza molar. En ciertas ocasiones se pueden observar colonias lisas.

El resto de especies (*A. viscosus, A. odontolyticus* y *A. naeslundii*) dan colonias lisas, aunque la morfología en agar-sangre es similar a la de las descritas anteriormente. Sólo *A. odontolyticus* en agar-sangre da colonias de aspecto rojizo, que pueden estar rodeadas de una zona de hemólisis.

Identificación

La identificación de las cepas aisladas se realiza por estudios bioquímicos. La valoración de las distintas pruebas precisa una investigación más exhaustiva. Se puede, no obstante, afirmar que todas las especies son indol-negativas, no proteolíticas y, con la excepción de *A. viscosus*, catalasa-negativas. Todas las especies fermentan la glucosa, y los productos catabólicos son ácidos: acético, fórmico, láctico y succínico. La fermentación de otros azúcares es variable: *A. israelii* fermenta la xilosa y no hidroliza el almidón, lo que le diferencia de *A. bovis*. La producción de SH_2 depende del medio y del método de estudio.

Por último, citemos que puede ser de alguna utilidad la cromatografía gaseosa para confirmar la identificación. El diagnóstico indirecto carece de valor.

TRATAMIENTO

Consiste fundamentalmente en la combinación de procedimientos quirúrgicos (incisión, drenaje) y antibioterapia prolongada. Los fármacos que hay que utilizar son varios. Posiblemente, la penicilina G sea el fármaco de elección, a dosis de 600.000 U, dos veces al día, durante 1 mes. Puede continuarse con penicilina V durante otro mes, a dosis de 1 g/día. Según diferentes casuísticas, esta terapia proporcionaría un 4-18 % de fracasos.

Otros medicamentos sustitutivos y que se han mostrado activos *in vitro* son: tetraciclina, eritromicina, clindamicina, lincomicina, rifampicina, etc.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Como ya se ha apuntado al hablar de la ecología, las especies de *Actinomyces* patógenas para el hombre son huéspedes de la cavidad oral (criptas tonsilares y surcos gingivodentales). Por tanto, la infección es, la mayor parte de las veces, de origen endógeno y no parece existir el contagio interhumano. Todos estos factores se han analizado ya con detalle en el apartado de patogenia. La mejor medida preventiva es una buena higiene bucal.

Nocardia

TAXONOMIA Y CLASIFICACION

Las nocardiosis constituyen un grupo de afecciones cuya frecuencia parece estar en aumento, hecho relacionado fundamentalmente con la existencia de mejores técnicas de aislamiento e identificación, y la frecuente utilización de inmunosupresores y antibióticos, que actúan como factores predisponentes al condicionar una disminución de las defensas del organismo.

El género *Nocardia* fue descrito por Trevisan, en 1889, e incluye cinco especies, entre ellas *Nocardia farcinica*, aislada un año antes por Nocard y que por haber sido descrita en primer lugar fue posteriormente considerada especie tipo.

Durante los últimos años se ha realizado un gran esfuerzo para establecer una clasificación de las bacterias nocardioformes. Para ello se han estudiado géneros ya definidos y se han propuesto otros nuevos. Por taxonomía numérica, estudios fenotípicos, químicos, serológicos y genéticos se ha comprobado que las bacterias nocardioformes se distribuyen en varios grupos (*clusters*), que son considerados en el momento actual géneros diferentes.

Sobre la base de aspectos morfológicos, bioquímicos y ADN, las bacterias nocardioformes se agrupan en nueve géneros (tabla 46-1).

El género *Nocardia, sensu stricto*, consta de varias especies: unas bien estudiadas, *N. asteroides* y *N. brasiliensis*, y otras peor definidas, *N. amarae, N. transvalensis, N. vaccinii*, etc.

El género *Nocardia* está formado por actinomicetos aerobios, grampositivos, ácido-alcohol-resistentes o parcialmente ácido-alcohol-resistentes. Producen un micelio vegetativo que se fragmenta y origina elementos cocáceos o bacilares. Poseen ácidos micólicos, pared celular tipo IV y un GC % de 64-69.

COMPOSICION QUIMICA

En los últimos años, la composición química de las bacterias nocardioformes en general y del género *Nocardia* en particular ha sido objeto de numerosos estudios.

El género *Nocardia* tiene pared celular tipo IV: ácido meso-diamino-pimélico, arabinosa y galactosa. Este tipo de pared se encuentra también en otros géneros como *Mycobacterium, Corynebacterium* y *Rhodococcus*.

Por análisis químicos más completos se ha comprobado que el estudio lipídico puede ser de gran ayuda para la identificación de las bacterias nocardiformes. Los lípidos más importantes son los siguientes.

Acidos micólicos

Son de larga cadena y se encuentran exclusivamente en bacterias con pared celular del tipo IV (tabla 46-2).

En general, los ácidos micólicos de las nocardias tienen 52 carbonos, las corinebacterias, de 30 a 36 y las micobacterias, más de 60.

Los diferentes tipos de ácidos micólicos pueden diferenciarse por cromatografía gaseosa (pirólisis y espectroscopia de masas).

Tabla 46-1. Propiedades diferenciales de los géneros nocardioformes[a]

Características	*Nocardia*	*Rhodococcus*	*Micropolyspora*	*Saccharopolyspora*	*Pseudonocardia*	*Oerskovia*	*Promicromonospora*	*Nocardioides*	*Intrasporangium*
Framentación marcada del micelio en cultivos viejos	d	+	–	+	+	+	+	+	d
Producción de aeromicelio	+[b]	+[c]	+	+[b]	+	–	+[b]	+	–
Formación de conidios	+[b]	–	+	+[b]	+	–	–	+	–
Producción de elementos móviles	–	–	–	–	–	+[d]	–	–	–
Aerobios estrictos	+	+	+	+	+	–	+	+	+
Anaerobios facultativos	–	–	–	–	–	+	–	–	–
Tipo de pared celular[e]	IV	IV	IV	IV	IV	VI	VI	I	I
Presencia de ácidos micólicos	+[f]	+[f]	–	–	–	–	–	–	–
Tipo de fosfolípido[g]	PII	PII	PIII	PIII	PIII	PV	PV	PI	PIV
Menaquinonas	MK-8 (H_4) KM-9(H_2)	MK-8(H_2) MK-9(H_2)	MK-9(H_4) MK-9(H_6)	MK-9(H_4)	MK-9(H_4)	MK-9(H_4)	MK-9(H_4)	MK-8(H_4)	ND
G + C mol % de ADN	64-72	63-72	ND	77	79	70-75	70-75	66-69	70

[a]Símbolos: +, 90 % o más de cepas positivas; –, 10 % o menos de cepas positivas; d, 11-89 % de cepas positivas, y ND, no determinado.
[b]Falta en algunas cepas.
[c]Habitualmente, escaso.
[d]Algunas cepas inmóviles (*Oerskovia* inmóviles).
[e]Constituyentes principales en las paredes celulares de los tipos: I, l-DAP, glicina; IV, mDAP, arabinosa, galactosa, y VI, lisina (con presencia variable de acido aspártico y galactosa).
[f]Acidos nocardiomicólicos.
[g]Características de los diversos tipos de fosfolípidos, además del fosfatidilinositol (que está siempre presente): PI, fosfatidilglicerol (variable); PII, sólo fosfatidiletanolamina; PIII, fosfatidilcolina (con variables de fosfatidiletanolamina, fosfatidilmetiletanolamina y fosfatidilglicerol, y sin fosfolípidos que contengan glucosamina); PIV, fosfolípidos que contienen glucosamina (con variables de fosfatidiletanolamina), y fosfatidilmetiletanolamina), y PV, fosfolípidos que contienen glucosamina y fosfatidilglicerol.

Tabla 46-2. Caracteres químicos de las bacterias nocardioformes y afines

Taxonomía	Acidos grasos*	Acidos micólicos** (n.º de carbonos)
Corynebacterium	S, V, (I, T)	30-36 (14-18)
Mycobacterium	S, V, (I), T	60-90 (22-26)
Nocardia	S, V, (I), T	46-60 (12-18)
Pseudonocardia	?	–
Rhodococcus	S, V, (I, T)	34-66 (12-18)
Saccharopolyspora	?	–
Oerskovia	S, V, I	–
Rothia	S, I	–
Streptomyces	S, I	–

*S, no ramificados; V, insaturados; I, iso y anteiso; T, ácido tuberculoesteárico; ( ), baja proporción o variabilidad.
**Entre paréntesis, n.º de carbonos en ácidos grasos, mediante pirólisis.

La disgregación de los ácidos micólicos por pirólisis en ésteres de cadena recta y aldehídos de cadena larga permite diferenciar mediante cromatografía gaseosa los ésteres de las micobacterias de los de otros géneros afines. Los ésteres micólicos de las micobacterias contienen de 22-26 átomos de carbono, en tanto que los de *Nocardia, Corynebacterium* y *Rhodococcus* tienen de 12 a 18.

Lípidos polares

Se han encontrado mezclas muy complejas de lípidos polares (tabla 46-3). Los principales son fosfolípidos y glicolípidos. Los fosfolípidos más comunes son:

1. Difosfatidilglicerol (DPG).
2. Fosfatildilinositol (PI).
3. Fosfatidilinositol manósido (PIMs).

Los glicolípidos han sido menos estudiados.

Menaquinonas. Son quinonas isoprénicas encontradas en las bacterias nocardiformes y afines. Su distribución, según las distintas formas estructurales, tiene interés en la clasificación, en particular para distinguir las nocardias *sensu stricto*, que contienen una mezcla de tetrahidromenaquinonas con 6 y 8 U isoprénicas (abreviadamente se expresa MK-6[H_4]) de otros géneros: *Bacterionema, Corynebacterium, Mycobacterium* y *Rhodococcus* (tabla 46-3).

ACCION PATOGENA

Patogenia

El género *Nocardia* no produce toxinas. Al igual que en las micobacterias, son factores de virulencia los lípidos, el cord *factor* (diéster-trealosa-micolato) y las nocobactinas que captan el hierro como factor de crecimiento. También se ha comprobado que la mucina aumenta la virulencia, probablemente porque condiciona que el hierro sea aprovechado con más rapidez.

Los productos bacterianos no son antifagocitarios, a diferencia de la pared y de la capacidad de filamentación, pues éstas inhiben la fusión del fagosoma y lisosoma. El principal mecanismo responsable de la respuesta inflamatoria y necrosis tisular parece ser su facilidad para sobrevivir en los tejidos.

Tabla 46-3. Caracteres químicos de las bacterias nocardioformes y afines

Taxonomía	Fosfolípidos						Glicolípidos	Menaquinonas
	DPG	PG	PE	PI	PDM	PDD		
Corynebacterium	+	±	−	+	+	+	+	MK-8(H_2), MK-9(H_2)
Mycobacterium	+	±	+	+	+	+	+	MK-8(H_2), MK-9(H_2)*
Nocardia	+	±	+	+	+	+	+	MK-6(H_4), MK-8(H_4)*
Pseudonocardia								
Rhodococcus	+	±	+	+	+	+	+	MK-8(H_2), MK-9(H_2)
Oerskovia	+	+	−	+	?	?	?	MK-9(H_2, H_4*)
Streptomyces	+	?	+	−	¿+?	¿+?	+	MK-9(H_4, H_6*, H_8)

*Componente principal.

La acción patógena del género *Nocardia* tiene aún muchos aspectos desconocidos. Desde el punto de vista patogénico tiene gran interés la acción de los macrófagos, ya que se ha comprobado que las nocardias se multiplican en dichas células, circunstancia que permite considerar las nocardias como parásitos facultativos intracelulares. La suerte que han de seguir estos gérmenes dentro del organismo depende de diversos factores: vía de inoculación, estado metabólico de macrófagos y polinucleares, tipos y concentración de lisosomas en estas células, presencia de opsoninas, complemento, virulencia de microorganismos, etc. En el caso de que los macrófagos logren destruir las nocardias, la infección no progresará; en caso contrario se producirá una respuesta inflamatoria con infiltración de polinucleares y formación de un exudado purulento. A menudo se produce un absceso necrótico que suele rodearse de tejido de granulación. El granuloma típico está constituido por células epitelioides, gigantes, macrófagos y linfocitos.

Una de las hipótesis que explican la invasión microbiana por gérmenes oportunistas, como las nocardias, es que los fagocitos de las personas que reciben esteroides o inmunosupresores tienen alterada su función posiblemente en los lisosomas y no logran destruir los gérmenes fagocitados.

Es posible que ciertos componentes químicos de la pared celular desempeñen un papel importante en la respuesta del huésped. El hecho de que se hayan descrito formas L de *Nocardia* con capacidad patógena para animales de experimentación plantea la posible responsabilidad de este tipo de formas en la patología humana.

La patogenicidad del género *Nocardia* ha sido muy discutida. Ciertos autores consideran que el solo hecho de aislar nocardias a partir del esputo u otros productos patológicos, en ausencia de síntomas clínicos pulmonares, no significa necesariamente que el sujeto padezca una infección pulmonar por dicho germen y admiten la posibilidad de que las nocardias se encuentren en el organismo humano de forma saprofita. Esta teoría se basa en la ubicuidad de estos microorganismos, que serían fácilmente inhalados por muchos sujetos, de los cuales sólo una pequeña parte contraería la enfermedad. Otros autores, sin embargo, opinan que todo aislamiento de una nocardia significa infección real, aunque puede adoptar formas subclínicas o asintomáticas, y se basan en que dichos gérmenes son contaminantes raros en el laboratorio y no se encuentran como flora normal de la orofaringe.

Se ha comprobado que las nocardiosis, sobre todo las sistémicas, inciden predominantemente en sujetos que presentan una disminución de sus defensas, ya sea primaria por enfermedad subyacente o secundaria a ciertos tratamientos.

Existen factores predisponentes de tipo local: asma bronquial, bronquitis crónica, enfisema, neumoconiosis, neumonías previas, proteinosis alveolar, tuberculosis, carcinoma pulmonar y enfermedades inflamatorias crónicas. Esto puede explicar el aumento de la frecuencia que se viene observando de estos cuadros, dado que las enfermedades pulmonares crónicas han experimentado un incremento considerable.

Entre las enfermedades de tipo sistémico que coadyuvan al establecimiento de las infecciones por *Nocardia*, están los trastornos hematológicos del tipo de leucemias, linfomas, enfermedad de Hodgkin, disproteinemias, anemias, etc.; enfermedades del colágeno, como sarcoidosis, lupus eritematoso; alteraciones metabólicas, como diabetes, enfermedad de Cushing y alcoholismo.

Por último, los tratamientos que suelen favorecer la aparición de nocardiosis son: trasplantes de órganos, como corazón y riñón, y tratamientos prolongados con esteroides, inmunosupresores e incluso antibióticos.

El análisis de todos estos factores predisponentes apoya la idea de que las nocardiosis son infecciones oportunistas que aparecen sobre todo en enfermos debilitados. No obstante, hay que señalar que en muchos casos la infección no se asocia a estos factores, por lo que debe considerarse que, además de su papel como oportunistas, también son capaces de producir cuadros severos en personas previamente sanas.

Manifestaciones clínicas

Las especies que clásicamente se han considerado patógenas para el hombre son *N. asteroides* y *N. brasiliensis*. Esta última es primariamente patógena, mientras que la primera se comporta principalmente como oportunista, es decir, con capacidad patógena sólo en pacientes con defensas disminuidas por otras enfermedades o tratamientos. Las nocardias pueden muy bien ser responsables de los siguientes cuadros:

Nocardiosis pulmonar, neural y/o sistémica: la especie responsable casi siempre es *N. asteroides*, si bien también pueden serlo *N. brasiliensis* y *N. otitidiscaviarum*.

Micetoma, producido casi siempre por *N. brasiliensis* y a veces por *N. asteroides* y *N. otitidiscaviarum*.

Infecciones cutáneas o subcutáneas por *N. asteroides* o *N. brasiliensis*.

El cuadro patológico que habitualmente produce *N. brasiliensis* es el llamado micetoma, pero no hay que descartar dicha especie como productora de enfermedades sistémicas.

N. asteroides es la especie que se aísla con mayor frecuencia en casos de nocardiosis sistémica. La patología inducida por *N. asteroides* corresponde en general a procesos viscerales, preferentemente respiratorios, con tendencia a diseminarse y a dar localizaciones secundarias en otros órganos: sistema nervioso central, riñón, corazón y ojos. *N. asteroides* no suele originar micetomas u otras infecciones de tejidos blandos.

Nocardiosis pulmonar y sistémica

La localización pulmonar es la más frecuente en nuestra área geográfica. Aproximadamente en el 75 % de los casos se presenta como un cuadro pulmonar sintomático, con desarrollo de lesiones primarias piógenas, que pueden aparecer en forma de abscesos pulmonares únicos, neumonías necrotizantes agudas, infiltrados diseminados que recuerdan la tuberculosis miliar, micetomas pulmonares o fibrosis progresiva que se extiende a la pleura y pared torácica y semejan una actinomicosis. A partir de esta localización primitiva es frecuente la diseminación de las lesiones a otros órganos. Generalmente es hematógena cuando se trata de *N. asteroides* y linfática o por contigüidad en el caso de *N. brasiliensis*.

Aunque las localizaciones metastásicas pueden encontrarse en cualquier parte del organismo humano, como las nocardias tienen gran afinidad por el sistema nervioso central, son frecuentes los abscesos cerebrales únicos o múltiples. Les siguen en frecuencia las localizaciones de pie, tejido celular subcutáneo y riñón, en el cual las lesiones se extenderían desde la corteza a la medula. Otras localizaciones metastásicas pueden aparecer en ojos, pericardio, miocardio, hígado, bazo y suprarrenales.

El comienzo de la nocardiosis respiratoria suele ser solapado y simular un cuadro pseudogripal persistente, que da origen posteriormente a la instauración de un cuadro clínico superponible en muchos aspectos al de la tuberculosis pulmonar. Se caracteriza inicialmente por disnea, tos seca y no productiva. Más tarde aparece una expectoración mucopurulenta y con frecuencia hemoptoica. Si aparece cavitación, puede haber hemoptisis masiva. Como síntomas generales son frecuentes la fiebre de intensidad variable, malestar general, pérdida de peso, anorexia, postración y sudores nocturnos.

Como ya se ha señalado, a pesar de que los cuadros con tendencia a la cronicidad son los más habituales, también se han observado formas agudas de peor pronóstico, que inciden sobre todo en pacientes con enfermedades intercurrentes o procesos previos favorecedores de la infección.

Si aparecen focos metastásicos, a los síntomas ya citados se añaden los de estas localizaciones, los cuales también pueden aparecer de forma aislada si el foco pulmonar pasó inadvertido y no fue diagnosticado.

Micetoma

En contraposición a la nocardiosis sistemática, es un cuadro clínico mejor caracterizado. Se trata de una enfermedad granulomatosa crónica del tejido subcutáneo y huesos, caracterizada por tumefacción, formación de abscesos y fístulas múltiples. Se localiza casi siempre en las extremidades inferiores, pie y pierna, menos veces en mano y brazo y pocas veces en tórax y cuello. Es unilateral.

Tiene períodos de remisión y exacerbación, durante los cuales van apareciendo otras pústulas o nódulos que al abrirse secretan un exudado serosanguinolento. A medida que la enfermedad progresa, se forman abscesos que fistulizan. Más tarde es invadido el hueso y el proceso se propaga a toda la superficie y aparecen unos gránulos pigmentados en el exudado.

Es propio de climas tropicales y también puede ser originado por otras bacterias (*Actinomyces*, *Streptomyces* y *Actinomadura*)

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Directo

Recogida de muestras

Los productos patológicos para realizar el estudio microbiológico son esputos, pus, LCR, líquido pleural, material de biopsia y exudados si se trata de un micetoma. El esputo es el producto más útil para el aislamiento del agente causal en las nocardiosis sistémicas, ya que la localización pulmonar es la más frecuente. Sin embargo, algunos autores han revelado que la detección de *Nocardia* a partir del esputo no es muy frecuente, como sucede en otras infecciones pulmonares, concretamente las causadas por *Pneumocystis carinii* y *Aspergillus*. Estas dificultades han estimulado la práctica de métodos diagnósticos más agresivos, que proporcionan mejores resultados y mayor rapidez en el diagnóstico. Estos métodos son los lavados bronquiales, la aspiración pulmonar percutánea y la biopsia pulmonar, ya sea con aguja, cepillo o a cielo abierto. El éxito obtenido con estos procedimientos justifica su realización, especialmente en pacientes inmunodeprimidos y sobre todo cuando se sospecha diseminación. Es conveniente repetir los estudios, dos o tres veces a días alternos.

Examen microscópico

Las dos tinciones más utilizadas son las de Gram y Ziehl-Neelsen. Las nocardias son, aunque algunas se tiñen irregular y débilmente, bacterias grampositivas, por lo que dicha tinción nos permite observarlas con su típica morfología: filamentosas, de aproximadamente 1 µm de diámetro, ramificadas, frecuentemente en ángulo recto, arrosariadas y fragmentadas en formas bacilares o cocáceas. Es necesario el examen con objetivo de inmersión, pues a pocos aumentos los filamentos que son tan finos pueden pasar inadvertidos. También son útiles las tinciones de Gram modificadas.

El comportamiento de las distintas especies del género *Nocardia* frente a la tinción de Ziehl-Neelsen es variable. Los filamentos y sus fragmentos pueden ser parcial o completamente ácido-alcohol-resistentes. Un sustitutivo de esta última técnica, que también ofrece buenos resultados, es la de Kinyoun, que se analiza más profundamente al tratar el género *Mycobacterium*.

Cultivos

La escasa exigencia nutritiva del género *Nocardia* facilita que la mayoría de los medios habituales, sin antibióticos, sirvan para su aislamiento a partir de los productos patológicos. No obstante, con los medios de cultivo especiales para hongos, como el agar-Sabhi, agar-Saboureaud-dextrosa, agar-sangre y agar-infusión de cerebro y corazón, se obtienen mejores resultados. En general, este último y el agar-Müeller-Hinton-sangre suelen ser los más utilizados. El medio de Löwenstein-Jensen es igualmente muy adecuado.

La temperatura idónea de desarrollo es de 25 °C, aunque también crecen a 20 °C e incluso a 38-39 °C, con la ventaja de que a estas temperaturas se facilita el aislamiento, pues los contaminantes no se desarrollan. El pH de los medios de cultivo debe ser ligeramente alcalino.

Debido a la lentitud de crecimiento (tardan en crecer, hasta dar colonias reconocibles macroscópicamente, de 2 días a 4 semanas), los cultivos deben observarse a menudo durante 4 semanas, para detectar la aparición de colonias rugosas, de color naranja o blanco y algodonosas, que deben examinarse al microscopio para ver las típicas ramificaciones dendríticas.

No debe olvidarse que el desarrollo más rápido de la flora habitual puede ahogar el crecimiento de las nocardias, por lo que el diagnóstico bacteriológico se debería enfocar como en el caso de la tuberculosis, es decir, descontaminando las muestras patológicas con sustancias que destruyan la flora habitual y causen poco efecto sobre las nocardias. Se han descrito algunas técnicas de descontaminación, pero no existe ninguna establecida definitivamente en este sentido.

Identificación

La caracterización del género y de las especies es compleja, ya que no se han encontrado aún pruebas de realización sencilla que proporcionen resultados satisfactorios. No obstante, son muy numerosas las pruebas de identificación que se emplean para establecer el diagnóstico bacteriológico de especie:

1. Estudio de la ácido-alcohol-resistencia.
2. Crecimiento en agar-Dubos y morfología microscópica de las colonias.
3. Hidrólisis de caseína, xantina, tirosina y urea.
4. Tolerancia a la lisozima.
5. Oxidación de azúcares.
6. Cromatografía gaseosa, fagotipia, caracterización de nocobactinas, etc.

Indirecto

No existen pruebas serológicas o cutáneas, o ambas, estandarizadas. Las pruebas cutáneas han sido descritas por diversos autores, utilizando antígenos derivados de las nocardias, y su fundamento es el mismo que el de la tuberculina en el caso de la tuberculosis. Las sensitinas se obtienen a partir de cultivos de las diferentes especies mediante procedimientos físico-químicos y se basan en la obtención de derivados proteicos purificados.

Se inoculan diluciones adecuadas de los extractos por vía intradérmica, y se realizan las lecturas a las 48-72 horas midiendo el diámetro de induración.

La sensitina de *N. brasiliensis* es la que produce menores reacciones inespecíficas. Los problemas de reacción cruzada con *M. tuberculosis* y las cuestiones aún no resueltas en relación con la sensibilidad y la interpretación de las pruebas han impedido su aplicación generalizada.

En cuanto a los procedimientos serológicos se han realizado ensayos en pacientes afectos de nocardiosis, pero no se han registrado resultados consistentes. Se han descrito antígenos fijadores del complemento y anticuerpos aglutinantes, y se ha empleado un test de fijación del complemento para diagnosticar las nocardiosis por *N. asteroides* en la vaca. También se ha empleado la inmunofluorescencia. Por el momento no existen procedimientos serológicos fiables para el diagnóstico o el pronóstico de la enfermedad.

TRATAMIENTO

Las sulfamidas son los fármacos de elección. La dosis necesaria para obtener unos niveles adecuados en sangre es de 6-10 g diarios. El tiempo de administración varía de acuerdo con la situación clínica: no debe ser inferior a 6 semanas, una vez que el cuadro se haya resuelto o estabilizado. En ciertas situaciones, como en enfermos con cuadros patológicos intercurrentes, el tratamiento deberá prolongarse 1 año o incluso más. Dentro de las sulfamidas, la sulfadiazina es la más empleada. La combinación trimetoprim y sulfametoxazol tiene ciertas ventajas, ya que el trimetoprim potencia la actividad de la sulfamida y tanto éste como el sulfametoxazol atraviesan bien la barrera hematoencefálica y su distribución en el organismo es muy satisfactoria. Además, se alcanzan concentraciones importantes en el árbol respiratorio y tejido pulmonar. La dosis diaria es de 2,4 g de sulfametoxazol y 480 mg de trimetoprim.

Además de los fármacos mencionados, existen otros que tienen actividad sobre *Nocardia*. Algunos de ellos se han utilizado en asociación con las sulfamidas, como la estreptomicina y cicloserina. La ampicilina y la capreomicina son muy activas *in vitro*, si bien no existe experiencia clínica sobre su utilidad.

Por último, el drenaje de abscesos y empiemas es de gran ayuda en el tratamiento, especialmente en el caso de abscesos cerebrales, y menos importante en los de localización pulmonar, a no ser que el proceso se haya estabilizado.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Las nocardias son microorganismos ubicuos, de distribución cosmopolita. Se han aislado a partir de muestras de tierra e incluso de personas sanas, y si bien habitualmente no forman parte de la flora comensal, algunos autores las consideran flora normal transitoria.

El mecanismo de transmisión presenta algunos puntos oscuros. Parece evidente que no existe contagio interhumano ni interanimal ni de animal a hombre. La principal vía de penetración es la aérea. Se han descrito localizaciones primarias cutáneas, y, por tanto, se considera que la piel puede ser puerta de entrada de la infección. También se ha postulado la existencia de una posible infección endógena.

La distribución de la nocardiosis es cosmopolita, sin que exista influencia racial u ocupacional. Se ha observado mayor incidencia en el hombre que en la mujer, del orden

de 2/1 ó 3/1. Puede aparecer en cualquier edad, pero se observa una preponderancia en la edad media, entre 30-50 años.

Diferentes circunstancias pueden contribuir a la aparición de una nocardiosis y destacan entre ellas: cuadros pulmonares (bronquitis crónicas, enfisemas, proteinosis alveolar, tuberculosis, carcinoma pulmonar), trastornos hemáticos (leucemia, linfomas, enfermedad de Hodgkin, disproteinemias, anemias), enfermedades del colágeno (sarcoidosis, lupus eritematoso) y enfermedades metabólicas (Cushing, diabetes). Ya se ha descrito la relación que tiene con la administración de corticoides, inmunosupresores, antibióticos e incluso trasplantes de órganos.

Se ha prestado muy poca atención a la profilaxis de estas afecciones. Se han producido inmunizaciones activas en conejos vacunándolos con *N. asteroides*, y el suero de esos conejos vacunados inyectado a cobayos les protegió parcialmente, pero hasta el momento presente este modelo experimental no se ha trasladado al campo de la medicina humana.

Otras bacterias nocardioformes. Solamente los géneros *Rhodococcus*, *Oerskovia* y *Micropolyspora* tienen importancia médica. Algunas especies del género *Rhodococcus* producen infecciones en inmunodeprimidos; *Oerskovia* se ha implicado en casos de endocarditis y pionefrosis, y *Micropolyspora* es responsable de cuadros de alveolitis alérgica.

BIBLIOGRAFIA

Berd, D.: Laboratory identification of clinically important aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol. 25, 665-681, 1973.

Goodfellow, M.; Brownell, G. H., y Serrano, J. A.: The Biology of the Nocardiae. Academic Press, London, 1976.

Goodfellow, M., y Minnikin, D. E.: Nocardioform bacteria. Ann. Rev. Microbiol., 31, 159-180, 1977.

Kobayashi, G. S.: Actinomycetes: The fungus-like bacteria. En Davis, R. D.; Dulbecco, R.; Eisen, H. N., y Ginsberg, H. S. (dirs.) Microbiology, 3.ª ed., 743-750. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Mordarsky, M.; Kurylowicz, W., y Jeljaszewicz, J.: Nocardia and *Streptomyces*. Gustav Fischer, New York, 1978.

Ridell, M.: Immunodiffusion studies of some *Nocardia* strains. J. Gen. Microbiol., 123, 69-74, 1981.

Sykes, G., y Skinner, F. A.: *Actinomycetales*: Characteristics and Practical Importance. Academic Press, London, 1973.

Tisdall, P. A., y Roberts, G. D.: Aerobic actinomycetes and the clinical microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Newsletter, 1 (15), 1-3, 1979.

Capítulo 47

Mycobacterium

José Angel García-Rodríguez

La familia *Mycobacteriaceae*, lo mismo que corinebacterias y nocardias, tiene pared celular tipo IV con arabinosa, galactosa y ácidos micólicos. En esta familia se contiene un único género, *Mycobacterium*, que presenta como rasgos característicos el tratarse de bacilos rectos o incurvados, a veces filamentosos, inmóviles y no esporulados. Su condición más importante es la ácido-alcohol-resistencia. Se colorean con dificultad, pero, una vez coloreados, resisten la decoloración por el alcohol o los ácidos. Por esta razón, se les conoce como bacterias ácido-alcohol resistentes. Se trata de gérmenes muy ubicuos, y en la familia se incluyen desde saprofitos del suelo, agua, etc., hasta gérmenes capaces de producir en la especie humana lesiones crónicas granulomatosas, tales como lepra y tuberculosis.

Este género comprende múltiples especies, que con fines didácticos se dividen en tres grupos.

Complejo tuberculosis. Son especies productoras de tuberculosis, *M. tuberculosis*, *M. bovis* (incluida la cepa BCG) y *M. africanum*. También se incluye en este grupo *M. microti*, que a diferencia de los anteriores no es patógeno para el hombre, pero produce tuberculosis en ratas. Las vacunas preparadas con *M. microti* se han incluido en estudios piloto con la BCG, en vacunaciones humanas.

Su porcentaje de protección a los 10 años es similar al obtenido con la BCG.

Complejo lepra. Está formado por las especies de *M. leprae* (lepra humana) y *M. lepraemurium* (lepra en roedores).

Micobacterias atípicas. Son las especies del género *Mycobacterium* productoras de micobacteriosis.

Mycobacterium tuberculosis

M. tuberculosis es un bacilo fino, de 1 a 4 μm de longitud por 0,3-0,5 μm de anchura, recto o ligeramente incurvado y que en los productos patológicos puede presentarse aislado o en agrupaciones de dos o tres elementos, adoptar formas en N, L, V, etc. o semejar empalizadas o letras chinas, como las corinebacterias. En los cultivos líquidos puede aparecer filamentoso. Aunque es grampositivo, se colorea irregularmente, y el método de Ziehl-Neelsen es el más eficaz para ponerlo de manifiesto.

PATOGENIA

En este apartado se analizan los constituyentes y determinantes de patogeneidad de *M. tuberculosis*, tipos de lesiones y evolución de la enfermedad, así como el estado de resistencia e hipersensibilidad del huésped.

El componente más importante es la pared. Se trata de una gran macromolécula que contiene un importante número de complejos lipídicos solubles. El esqueleto de esa macromolécula es la mureína (mucopéptido o peptidoglicano), que tiene una composición básica similar a la mureína de otras bacterias y presenta las unidades terminales de arabinosa esterificadas con ácido micólico. Los complejos lipídicos solubles representan el 30-60 % de ella y entre ellos se incluyen micósidos, glicolípidos y ésteres de trealosa. También contiene moléculas solubles en agua no lipídicas, como glucógeno, glucano, lipopolisacáridos y proteínas (tuberculina). La pared tiene una estructura compleja y está compuesta de cuatro capas (fig. 3-8):

1. Peptidoglicano, con moléculas de N-acetilglucosamina y ácido N-glicosilmurámico.
2. Polímeros de arabinosa y galactosa.
3. Acidos micólicos.
4. Lípidos superficiales (micósidos, *cord factor* y sulfolípidos).

Los constituyentes totales de la bacteria pueden dividirse en tres grupos: lípidos, proteínas y polisácaridos.

Lípidos

M. tuberculosis, como las micobacterias en general, es rico en lípidos. Son probablemente los responsables de la ácido-alcohol-resistencia y sirven para la identificación y clasificación. Representan el 40 % del peso seco de la bacteria y están localizados principalmente en la pared. Los principales son:

1. Acidos grasos de cadena lineal, como el ácido palmítico y oleico.
2. Acidos grasos de cadena ramificada, como los ácidos ftienoico, micocerósico, micólico y tuberculoesteárico.
3. Lípidos neutros, como triglicéridos y ceras.
4. Fosfolípidos: cardiolipina, fosfatidil-etanolamina, fosfatidil-inositol y manofosfoinositósidos.
5. Glicolípidos, como los micósidos A, B y C, acilglucosas, *cord factor* y ésteres de trealosa.
6. Sulfolípidos, lipopolisacáridos, menaquinonas, etc.

Los ácidos micólicos son parte importante de la estructura de la pared. Los fosfolípidos se encuentran fundamentalmente en la membrana celular y contribuyen a las funciones de ésta. Triglicéridos, acilglucosa y trealosas contribuyen a la supervivencia del microorganismo en condiciones adversas. Los micósidos tienen una función enigmática, aunque se sabe que el micósido C de *M. avium* y *M. smegmatis* es receptor de fagos y en *M. lepraemurium* actúa como una cubierta de defensa.

La antigenicidad se ha señalado en varios componentes lipídicos, especialmente en los fosfolípidos, pues el *cord factor* y manofosfoinositósidos son sólo antigénicos cuando se unen a un portador proteico y adyuvante. No obstante, la antigenicidad se ha asociado más con proteínas específicas y algunos polisacáridos.

Proteínas

Son después de los lípidos los componentes más importantes, pues son responsables de la reacción tuberculínica. También, como se ha señalado antes, provocan la formación de anticuerpos.

Antígenos

Los antígenos del género se clasifican en cuatro grupos: grupo I, existentes en todas las especies del género y algunos otros relacionados; grupo II y III, presentes en las cepas de crecimiento lento y rápido, respectivamente, y grupo IV, específicos de especie.

Determinantes de patogenicidad

M. tuberculosis no produce exotoxinas, endotoxinas o enzimas que puedan causar efectos adversos. Tampoco se trata de un germen capsulado. Los violentos síntomas tóxicos provocados por la inyeccción de pequeñas cantidades de tuberculina son manifestaciones de alergia a la tuberculoproteína y no reacciones endotóxicas.

Se conoce que *M. tuberculosis* es rápidamente fagocitado por las células del SRE y puede multiplicarse dentro de ellas, y aunque no existen unos mecanismos o factores patogénicos suficientemente aclarados, sí se han encontrado factores tóxicos que intervienen en la patogénesis.

«Cord factor»

Las cepas virulentas de bacilos tuberculosos forman cordones microscópicos, donde los bacilos se encuentran ordenados en cadenas paralelas. La formación de cordones está relacionada con la virulencia. A partir de bacilos virulentos se ha extraído, con éter de petróleo, este factor «formador de cordones» (trealosa, 6,6-dimicolato).

Pruebas directas del papel del *cord factor* en la producción de la enfermedad por cepas virulentas han faltado hasta 1972, en que se demostró que esta sustancia asociada con albúmina bovina sérica metilada se hacía antigénica y este complejo producía anticuerpos específicos frente al *cord factor*. Como los animales de experimentación inmunizados con *cord factor* y después inoculados sobrevivían, se consideró que esta supervivencia era consecuencia de la neutralización de la toxicidad del *cord factor* por anticuerpos. Además, se ha comprobado que estos anticuerpos, que son protectores, pueden ser transmitidos pasivamente. No obstante, al haberse aislado a partir de micobacterias avirulentas del tipo de *M. phlei* y *M. smegmatis*, se considera que, aun siendo un factor importante en la patogenia de la enfermedad, no es el único.

También se ha comprobado que provoca granulomas crónicos, inhibe la diapedesis leucocitaria y lesiona *in vitro* las membranas mitocondriales.

Sulfolípidos

Existe correlación entre su contenido y la virulencia. Actúan aumentando la toxicidad del *cord factor* e inhibiendo la fusión lisosoma-fagosoma. La fusión fagolisosoma, después de la ingestión del bacilo tuberculoso por macrófagos, es más lenta cuando se trata de cepas virulentas que cuando son avirulentas. La capacidad de sobrevivir en los macrófagos parece debida al fallo de la fusión fagolisosoma y se ha comprobado que los sulfolípidos son potentes inhibidores de esta fusión.

Micobactinas y exoquelinas

Es conocida la absoluta dependencia de las micobacterias de una tasa suficiente de hierro para el crecimiento. Cuando se desarrolla *in vivo*, el bacilo tuberculoso depende de la producción de micobactinas, sustancias que pueden recuperar el hierro a partir de la transferrina y permiten así el crecimiento del bacilo tuberculoso virulento. Dado que las micobactinas son esenciales para este propósito, pueden considerarse factores de virulencia, pese a no causar efectos perjudiciales directos sobre el huésped.

De cultivos de micobacterias se han aislado unas sustancias llamadas *exoquelinas*, que quelan y solubilizan el hierro. Al extraer el hierro a partir de la ferritina lo hacen aprovechable para las bacterias. Son solubles y dializables y no productos del metabolismo. A pesar de que no tienen efecto de deterioro sobre los huéspedes animales, deben considerarse factores de virulencia.

Catalasa

M. tuberculosis es aerobio estricto. El crecimiento cesa cuando falta el oxígeno. Esta dependencia del oxígeno molecular para el crecimiento está avalada por el hecho de que el pulmón es el sitio favorable para la infección, sobre todo el vértice pulmonar en la reinfección. Además, se ha comprobado que, en los animales infectados experimentalmente por vía intravenosa, la enfermedad pulmonar progresa más rápidamente si estos animales se sitúan en una atmósfera enriquecida de oxígeno.

Antes se creía que la dependencia del oxígeno derivaba del requerimiento de éste para la oxidación directa de sustratos del tipo del glicerol y la glucosa, pero en la actualidad se ha comprobado que las cepas resistentes a la isoniacida tienen una virulencia reducida para el cobayo y estas cepas muestran a su vez una reducida actividad catalásica. La base de esta débil virulencia es asumida por el hecho de la escasa capacidad de estas cepas para destruir el peróxido de hidrógeno, ya que la producción de éste por las células fagocitarias es un factor crítico para la destrucción de las bacterias, una vez ingeridas.

Tipo de lesiones y evolución

La producción y desarrollo de las lesiones, así como su progresión o curación, están determinados fundamentalmente por el número de bacilos tuberculosos presentes en el inóculo, su multiplicación posterior y la resistencia e hipersensibilidad del huésped. *M. tuberculosis* llega al organismo por inhalación, ingestión o directamente a través de la piel. La inhalación es la forma más frecuente y las manifestaciones locales varían según la vía de llegada. Cuando ésta es por inhalación, la lesión primaria se desarrolla en el pulmón, y los ganglios linfáticos traqueobronquiales son los más afectados. Si la llegada se produce por ingestión, la lesión primaria aparece en la mucosa bucal o en las amígdalas, con afectación de los ganglios linfáticos cervicales (adenitis cervical o escrófula), o en la pared intestinal en asociación con adenitis mesentérica con o sin peritonitis. Cuando la penetración se produce a través de la piel, aparece una ulceración en el sitio de la inoculación, que va acompañada de afectación de los ganglios linfáticos regionales.

La lesión pulmonar tiene tres fases:

Inflamación

Es una lesión alveolar de tipo exudativo, es decir, una reacción inflamatoria aguda, con líquido de edema, fibrina, escasos leucocitos polinucleares y aparición más tardía de monocitos en torno a los bacilos, que semeja una neumonía bacteriana. La lesión contiene pocas bacterias y, aunque localizada, puede ser microscópica o envolver un área pulmonar extensa, que es visible radiológicamente. De ordinario, los bacilos escapan del foco parenquimatoso local y drenan por los vasos linfáticos en los ganglios linfáticos del hilio pulmonar (complejo de Ghon) y desde aquí alcanzan los mediastínicos e incluso desde éstos, el conducto torácico, y a través de éste llegan a la circulación venosa, que también pueden alcanzar por propagación directa de la lesión del parénquima pulmonar. Como consecuencia de esta invasión sanguínea pueden surgir focos metastásicos en múltiples órganos, incluido el mismo pulmón.

La lesión exudativa parenquimatosa puede curar por resolución, con reabsorción de todo el exudado. A veces origina una necrosis caseosa masiva de todo el tejido o bien evoluciona hacia una lesión productiva (tubérculo). En esta fase exudativa, la prueba de la tuberculina se hace positiva.

Formación del tubérculo

Se trata de un granuloma que, cuando está completamente desarrollado, consta de tres zonas:

1. Un área central de células gigantes (células de Langhans), multinucleares.
2. Una zona media de células epitelioides, a menudo orientadas radialmente.
3. Una zona periférica, de fibroblastos, monocitos y linfocitos.

En el interior de todas las células antes citadas se encuentran *M. tuberculosis*.

Lesiones histológicas similares a ésta pueden aparecer en infecciones fúngicas, sífilis, sarcoidosis y otras enfermedades.

Caseificación

Aproximadamente 6 semanas después de la implantación bacteriana, una parte de la lesión inflamatoria, o el tubérculo, sufre una necrosis caseosa. La caseificación del tubérculo se inicia en la zona central, en tanto que en la periferia se desarrolla tejido fibroso. La caseificación se caracteriza por la desintegración de las células y de los bacilos hasta dar una masa coagulada, sólida y homogénea, que semeja el queso y puede persistir varios años.

Las bases bioquímicas de este fenómeno no se conocen. Dado que *M. tuberculosis* no contiene ni elabora toxinas, el proceso parece estar íntimamente relacionado con una expresión local de la reacción de hipersensibilidad retardada (injuria celular debida a los productos tóxicos liberados por los linfocitos sensibilizados por los antígenos micobacterianos).

El examen microscópico del *caseum* muestra escasos bacilos y la arquitectura del pulmón, tabiques y bronquios se mantienen, puesto que las fibras elásticas son particularmente resistentes a la necrosis.

Evolución de las lesiones

La lesión inflamatoria suele curar por reabsorción y el tubérculo suele hacerlo por fibrosis o calcificación. En algunas ocasiones se produce una propagación por vecindad al tejido pulmonar próximo, pleura o pericardio; una diseminación linfohematógena al mediastino, otras áreas pulmonares u otros órganos, o bien una obstrucción bronquial como consecuencia de la compresión de algún bronquio por las adenopatías.

La lesión caseosa evoluciona de distinta forma. La más favorable consiste en la condensación del *caseum* y la com-

pleta encapsulación por tejido fibroso. A veces, la parte central de la masa caseosa se licua. La base de esta alteración no se conoce, pero se sabe que va acompañada de una proliferación de *M. tuberculosis* en la masa caseosa. Si este líquido caseoso no drena, puede condensarse, encapsularse y reorganizarse en tejido fibroso. Si se produce la evacuación, el aire reemplaza el contenido y se forma una caverna, y como el ambiente es rico en oxígeno, a diferencia de lo que ocurría en las masas caseosas anteriores, los bacilos se multiplican activamente. Aunque la expansión de la cavidad puede quedar frenada por el tejido fibroso que la rodea, en ocasiones áreas pulmonares más amplias e incluso lóbulos extensos quedan reemplazados por una gigantesca cavidad aérea. Estas cavidades pocas veces curan espontáneamente y las cavidades cerradas, rodeadas de tejido fibroso, pueden persistir varios años drenando constantemente microorganismos en la luz bronquial, lo que ocasiona siembras pulmonares por diseminación bronquial y, a través del esputo, colonizaciones laríngeas, faríngeas, bucales, amigdalares e intestinales, fundamentalmente en la mucosa del íleon.

Primoinfección, reinfección y reactivación tuberculosas

La primoinfección es el primer contacto de una persona con el bacilo tuberculoso. Este hecho, aunque puede presentarse en adultos tuberculín-negativos, se produce sobre todo en la infancia. Se trata de una lesión aguda de tipo exudativo que se propaga a los linfáticos regionales (complejo de Ghon). Aunque puede producirse en cualquier parte del pulmón, es más frecuente en la base.

La lesión exudativa de la primoinfección cura por reabsorción, mientras que los linfáticos afectados sufren un proceso de caseificación y después se calcifican. La primoinfección condiciona el viraje tuberculínico.

La reinfección generalmente acontece en la edad adulta y es debida a una de estas dos causas:

1. Reactivación de bacilos que ha sobrevivido en las lesiones de la primoinfección (reinfección endógena).
2. Llegada por vía aérea de nuevos bacilos procedentes del medio ambiente.

Las lesiones de la reinfección evolucionan de forma más lenta y son principalmente de tipo productivo (formación de tubérculos, caseificación y fibrosis), con poca afectación linfática regional. Casi siempre la reinfección se presenta en el vértice pulmonar.

El contraste entre la primoinfección y la reinfección se demuestra experimentalmente mediante el «fenómeno de Koch»: Si se inocula un cobayo por vía subcutánea en la cara interna de una pata posterior con bacilos tuberculosos virulentos, la herida de inoculación cura rápidamente, pero a las 2 semanas o más aparece en el lugar de la inoculación un nódulo duro que se abre y ulcera. Es el «chancro de inoculación» que persiste hasta la muerte del animal. Al cabo de unos días aparece una adenopatía y se afectan los ganglios inguinales externo e interno y el subaórtico del mismo lado. Si se deja evolucionar la enfermedad, el animal muere en un espacio de tiempo que oscila entre 6 semanas y 1 año, y la autopsia muestra lesiones generalizadas en el bazo, hígado, pulmones y más rara vez riñones. Si este mismo animal es inyectado más tarde en otra zona anatómica, aparece a los 2 días una lesión indurada, negruzca, que se necrosa y ulcera, pero cura rápidamente sin que se afecten los ganglios linfáticos regionales. Esta respuesta puede obtenerse de idéntica forma si el producto que se inocula está compuesto de bacilos muertos o de un filtrado de un cultivo (tuberculina).

Inmunidad e hipersensibilidad

La reacción local y rápida de la reinfección, que acabamos de describir, contrasta con la evolución lenta de la primoinfección, que se debe a la resistencia y a la hipersensibilidad inducidas por la primoinfección del huésped con bacilos tuberculosos, aunque no está suficientemente aclarado todavía hasta qué punto cada uno de los dos hechos participa en la respuesta modificada en la tuberculosis de reinfección.

Una persona que ha padecido la primoinfección adquiere un estado de resistencia a una segunda infección. Esta «premunición» o inmunidad por preexistencia no se debe a la presencia de anticuerpos humorales, sino a una inmunidad celular que las células mononucleares adquieren en el momento de la infección inicial, gracias a la cual el huésped tiene una mayor capacidad para localizar los bacilos tuberculosos, reducir su propagación y disminuir la diseminación linfática. Este comportamiento se atribuye a la capacidad de los macrófagos para limitar la multiplicación de los organismos fagocitados y quizá destruirlos.

Durante la primoinfección, el huésped también adquiere un estado de hipersensibilidad tipo IV, que puede ponerse de manifiesto mediante la reacción tuberculínica.

La hipersensibilidad y la resistencia parecen aspectos separados de la misma reacción celular. Sin embargo, en el hombre no está claro qué factores determinan si la hipersensibilidad ayudará u obstaculizará las manifestaciones de resistencia.

El estado de hipersensibilidad parece depender de la presencia en la circulación de linfocitos sensibilizados. En la primoinfección, los antígenos liberados a partir del bacilo tuberculoso aparecen unidos a los linfocitos y éstos posteriormente se transformarán en una línea de memoria (linfocitos de memoria) y constituirán los efectores de la hipersensibilidad tuberculínica. El mecanismo exacto por el que tales células proporcionan reacción tuberculínica e inmunidad celular no está suficientemente aclarado. Resulta claro, sin embargo, que los macrófagos están involucrados en los dos procesos en respuesta a las sustancias efectoras (linfoquinas) liberadas como consecuencia de la interacción de los linfocitos sensibilizados y los antígenos derivados del bacilo tuberculoso. Una de estas sustancias efectoras es el factor inhibidor de la migración de los macrófagos (MIF), que hace que éstos se acumulen en el lugar de la reacción linfocito-tuberculina. Otras linfoquinas son el factor activador de los macrófagos (MAF), que estimula e incrementa la concentración de hidrolasas en los macrófagos locales y aumenta su capacidad de fagocitar y destruir bacilos, el factor linfotóxico, que causa la muerte y lisis de las células (incluidos los macrófagos) por contacto, y el factor de transformación de linfocitos (MF), que transforma los linfocitos no sensibilizados a la tuberculina en sensibilizados.

La capacidad de transferir hipersensibilidad retardada específica de una persona a otra reside en los linfocitos sensibilizados. No se requieren linfocitos intactos y se ha aislado de éstos una sustancia termolábil, que es un polipéptido o polinucleótido, de bajo peso molecular, llamado «factor de transferencia». Este factor de transferencia no es inmunogénico y es diferente de las sustancias efectoras mencionadas antes. Al cabo de algunas horas o días de haber sido inoculado a personas normales, este factor de transferencia engendra una hipersensibilidad retardada específica, que persiste durante un prolongado período.

Los linfocitos timodependientes adquieren el factor de transferencia después del primer contacto con los antígenos del bacilo tuberculoso. Así, estas células estimuladas por el antígeno proliferan y proporcionan clones de células sensibilizadas que dirigen las actividades de los macrófagos y de otros mecanismos de defensa del huésped en el sitio de la infección. Una vez que desaparece la lesión inicial, la progenie de cada célula sensibilizada permanece en el huésped. La posterior introducción del antígeno, en forma de tuberculina o mediante una reinfección, proporciona la estimulación antigénica de algunas de estas células que se transforman y proliferan. La liberación del factor de transferencia convierte los linfocitos no sensibilizados en sensibilizados, aumentando de esta forma la población de células sensibilizadas, que bajo la influencia del antígeno elaboran linfoquinas y mediadores de la respuesta celular del huésped.

Prueba de la tuberculina

Se denominan tuberculina los extractos del bacilo tuberculoso, que, sin tener toxicidad alguna para el hombre o el animal experimental no infectados, son extraordinariamente tóxicos para aquéllos cuando están infectados.

Koch, al investigar una sustancia eficaz para el tratamiento de la tuberculosis, obtuvo por filtración a partir del velo de cultivos envejecidos durante 6 semanas un líquido negruzco y espeso, que denominó tuberculina.

Esta tuberculina, llamada «tuberculina vieja» (OT), además de las tuberculoproteínas, llevaba otras sustancias presentes en el medio de cultivo o procedentes del propio bacilo. Por esta razón se ha purificado por fraccionamiento químico, y se ha obtenido el llamado derivado proteico purificado (PPD-S, derivado proteico purificado de Seibert), que es el material preferido para la prueba cutánea.

El PPD-S se estandariza en términos de su actividad biológica en «unidades de tuberculina» (UT). Las concentraciones más empleadas son:

1. 1 UT = 0,00002 mg de PPD en 0,1 ml.
2. 5 UT = 0,0001 mg de PPD en 0,1 ml.
3. 100 UT = 0,002 mg de PPD en 0,1 ml.

Como la inyección de una gran cantidad de tuberculina en un huésped hipersensibilizado puede dar lugar a reacciones locales intensas, la investigación de la sensibilidad tuberculínica debe efectuarse inicialmente con la PPD-S de 1 UT. Si la reacción es negativa, se hará después con la de 5 UT y, si ésta es negativa, con la de 100 UT ó 250 UT.

La dosis que hay que emplear, en cualquier caso, será de 0,1 ml, y la vía que se utiliza no es la escarificación (Von Pirquet), sino la intradérmica que se inocula en la cara anterior del antebrazo (Mantoux).

Un individuo que no ha tenido contacto con bacilos tuberculosos no reacciona a la PPD-S. Si, por el contrario, esta persona ha padecido la primoinfección, aparece en el sitio de la inoculación un eritema indurado. La reacción se debe leer a las 48-72 horas y se considera significativa si la inyección de 5 UT va seguida de una induración eritematosa de 10 mm o más de diámetro. La ausencia de eritema, o si éste es inferior a 4 mm, se considera no significativa o indicadora de una pequeña sensibilidad debida a la infección por otras micobacterias. La induración de 5-9 mm es de valor dudoso y puede ser exponente de infección tuberculosa o de infección por otras micobacterias.

La prueba de la tuberculina se hace positiva a las 4-6 semanas del comienzo de la infección y persiste prácticamente positiva durante toda la vida.

Esta reactividad tuberculínica puede transmitirse por células, de una persona tuberculín-positiva a otra tuberculín-negativa. Una reacción significativa es exponente de haber estado en contacto con *M. tuberculosis* (haber padecido la primoinfección). No indica, por tanto, enfermedad actual. Estas personas tuberculín-positivas están protegidas frente a la reinfección exógena, pero tienen el riesgo de desarrollar la enfermedad por reactivación de las lesiones de la primoinfección. Las personas tuberculín-negativas no han sufrido la primoinfección y, en consecuencia, no están protegidas de la infección exógena. La prueba de la tuberculina puede ser igualmente negativa en presencia de una infección tuberculosa masiva con anergia y enfermedades anergizantes intercurrentes: enfermedad de Hodgkin, sarampión, sarcoidosis o alteración por tratamiento con inmunosupresores.

Destaquemos igualmente que la vacuna BCG produce el viraje tuberculínico y esta positividad se mantiene varios años (entre 4 y 8).

Una reacción significativa a la tuberculina puede negativizarse como consecuencia del tratamiento específico, en aquellas personas en las que el viraje se produjo en fechas próximas.

Existen otras PPD (sensitinas) preparadas a partir de otras especies del género, que pueden utilizarse con fines diagnósticos, pues, aunque a altas concentraciones producen reacciones cruzadas, son específicas de especie a concentraciones bajas.

SINTOMAS Y SIGNOS CLINICOS

Tuberculosis pulmonar

Tanto en la primoinfección como en la tuberculosis de reinfección, los síntomas hacen su aparición cuando las lesiones son extensas, de forma que el diagnóstico suele establecerse cuando la enfermedad está avanzada. Los síntomas pueden ser generales o locales y no son específicos, ya que pueden presentarse en otras enfermedades crónicas.

Síntomas generales

Son la fiebre, sudoración, adelgazamiento progresivo y astenia. La temperatura es variable. Puede alcanzar 39 ó

39,5 °C, pero generalmente es más baja. Es más alta por la tarde y al anochecer y va acompañada a veces de sudoración nocturna. Algunos pacientes pueden tener cierta sensación de frío, pero nunca escalofríos. En la tuberculosis, a diferencia de lo que ocurre en otras enfermedades bacterianas, el paciente no aparece postrado como consecuencia de la fiebre e incluso en ocasiones ésta pasa inadvertida.

Síntomas locales

Son muy variables. Cuando las lesiones son pequeñas, la tos es débil o no existe. Tampoco hay expectoración. Por el contrario, si existen cavernas, ambas son intensas. El esputo, que inicialmente suele ser mucopurulento, como consecuencia de la cavitación se hace purulento. La hemoptisis es bastante común y se manifiesta en forma de estrías sanguinolentas mezcladas con el esputo, y son raras las hemorragias pulmonares masivas. Si la afección se propaga a la pleura, aparecen dolor pleural y disnea.

Signos físicos

Son muy diversos y no proporcionan datos suficientes para valorar la extensión y la actividad del proceso.

Signos radiológicos

Puede sospecharse una tuberculosis pulmonar cuando aparecen anormalidades radiológicas con motivo de exploraciones practicadas por la existencia de una sintomatología previa o como consecuencia de exámenes radiológicos practicados en masa.

En niños y jóvenes, los signos radiológicos no son específicos. Lo más frecuente es que exista una consolidación de un área del parénquima pulmonar, acompañada de una adenopatía hiliar del mismo lado.

En adultos las tres características más importantes son:

1. Anormalidad radiológica en el vértice o segmento posterior de un lóbulo pulmonar.
2. Infiltrado homogéneo y confluente o cavitación en las áreas mencionadas antes.
3. Pruebas radiológicas de diseminación broncógena.

A pesar de lo que acabamos de señalar, el diagnóstico de tuberculosis pulmonar no debe establecerse radiológicamente, ya que otras enfermedades pulmonares dan unas imágenes radiológicas idénticas o muy similares.

Tuberculosis extrapulmonar

Cualquier parte del organismo puede infectarse a causa de la diseminación broncógena, propagación directa o diseminación linfohematógena a partir de la lesión pulmonar. Como consecuencia de ello, aparecen focos en distintas áreas del cuerpo, que permanecen latentes, originan una infección localizada con poca sintomatología o provocan una tuberculosis de evolución rápida.

Conviene señalar que el tubo digestivo puede ser el sitio de la primoinfección en aquellas áreas geográficas en que la tuberculosis bovina es frecuente (*M. bovis*) y la tuberculosis cutánea se debe a la existencia de una puerta de entrada a este nivel.

Las manifestaciones clínicas de la tuberculosis extrapulmonar dependen del órgano afectado y, como la sintomatología es común a la que presentan otras infecciones crónicas o neoplásicas, el diagnóstico ha de realizarse por estudio microbiológico.

Cualquier órgano puede ser afectado y, por tanto, las posibilidades son múltiples. Los cuadros más frecuentes son la tuberculosis del SNC, genitourinaria, gastrointestinal, pericárdica y ósea. Aunque el hígado y el bazo pueden ser alcanzados por la diseminación, la enfermedad rara vez progresa en estos órganos a causa de la resistencia innata del SRE y de la débil tensión de oxígeno que existe. Otros órganos que también pueden ser alcanzados son la próstata, vulva y cérvix, mama, etc.

Por último, debe señalarse que, si la cifra de bacilos tuberculosos que invaden el torrente circulatorio a partir del foco de primoinfección, tuberculosis pulmonar de reinfección o tuberculosis extrapulmonar es muy elevada, aparecen múltiples focos en el organismo, que dan origen a lo que se conoce como tuberculosis miliar, la cual suele presentarse como una infección aguda y rápidamente progresiva, aunque en ocasiones puede aparecer como un proceso de escasa sintomatología, con poca fiebre y acompañado de anemia y debilidad.

DIAGNOSTICO

Directo

Muestras

Se emplearán para el estudio productos tales como esputo, orina, aspirado gástrico o bronquial, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, piezas de exéresis, etc. En el esputo puede realizarse la investigación de ácido tuberculoesteárico.

Examen microscópico

La presencia de micobacterias en los productos patológicos se puede desvelar en un primer paso mediante la observación microscópica de extensiones a partir de aquéllos. El fundamento de las técnicas que se emplean se basa en la propiedad de la ácido-alcohol-resistencia, que presentan las micobacterias, pero que no es privativa de ellas, dado que también aparece en algunos otros micro y macroorganismos. La causa de la ácido-resistencia de las micobacterias no está suficientemente aclarada. El papel de los ácidos micólicos está en entredicho al tratarse de un constituyente de la pared bacteriana. Si ésta se aísla por centrifugación y se purifica no aparece como ácido-alcohol-resistente. Por esto se considera debida a la formación de complejos estables entre la fucsina y algún componente bacteriano, y este complejo se mantiene unido cuando se hace una vigorosa decoloración, y lo más probable es la formación de un complejo estable fucsina-ARN bacteriano.

Debemos considerar dos tipos de extensiones: las que se efectúan directamente del producto patológico y las que

se realizan después de que el producto patológico ha sido homogeneizado y descontaminado.

Aunque *M. tuberculosis* es grampositivo, se colorea difícil e irregularmente; por esto, para teñir el primer tipo de extensiones, las dos técnicas más empleadas son las de Ziehl-Neelsen y la de Kinyoun. Ambas consiguen, por el calor o aumentando el tiempo de contacto, que la fucsina penetre profundamente y resista la acción decolorante de una solución ácido-alcohólica, y los bacilos se muestren de color rojo sobre un fondo azul.

Si las extensiones se realizan con el sedimento obtenido del tratamiento del producto patológico, se podrán teñir igualmente por una de las dos técnicas citadas o por técnicas de fluorescencia.

Si se emplean colorantes fluorescentes, auramina (Hageman), rojo de tiazina (Degommier) o naranja de acridina, con observación bajo luz ultravioleta, *M. tuberculosis* aparece en formaciones nítidas fluorescentes, que contrastan con el colorante de fondo.

Por último, queremos señalar que, en las observaciones microscópicas a partir de cultivos líquidos o en presencia de tuberculostáticos, se observan formas ácido-alcohol-resistentes que traducen la presencia de bacilos jóvenes o modificados por la acción de los fármacos.

Aislamiento

El aislamiento de micobacterias a partir de las muestras patológicas exige de éstas un tratamiento previo a la siembra, que consiste en homogeneizar el producto y eliminar la flora contaminante que impediría el desarrollo de las micobacterias sobre los medios de cultivo. Habrá que tener presente que algunos productos patológicos, como LCR o líquidos pericárdico, pleural y articular, no precisan, si la toma se realiza en condiciones adecuadas, ser descontaminados y pueden sembrarse directamente en los medios de cultivo o a partir del sedimento obtenido tras su centrifugación.

Afortunadamente, en términos generales, las micobacterias son algo más resistentes que la flora habitual a ciertas sustancias con acción descontaminante, lo que permite destruir los gérmenes comensales, sin que las micobacterias que se hallen en la muestra pierdan su viabilidad.

La homogeneización o fluidificación que precisan algunos productos patológicos son de gran importancia para conseguir el aislamiento de las micobacterias.

Básicamente, todas las técnicas comportan una primera etapa de descontaminación y homogeneización del producto patológico, seguida de una neutralización de las sustancias empleadas en la primera etapa y, por último, una concentración mediante centrifugación, con lo que se obtiene un sedimento del que se partirá para realizar la siembra en los medios de cultivo.

Existen varias técnicas y la más empleada es la del lauril-sulfato de sodio e hidróxido sódico con posterior neutralización por ácido ortofosfórico; se emplea como indicador de esta neutralización una solución de púrpura de bromocresol.

El producto, así acondicionado, con posterior agitación y centrifugación, permite obtener un sedimento para observación microscópica y apto para poder ser cultivado.

Los medios de cultivo se incuban a 37 °C durante 4-10 semanas, y se toma esta última cifra como tope para considerar el cultivo negativo. Es aconsejable incubar en un 5-10 % de CO_2.

Los medios líquidos se componen de glicerina, solución de oligoelementos y suero de buey (Youmans), o bien se sustituye este último con albúmina bovina (caldo Dubos, Middlebrook 7H9). En estos medios, el bacilo inicia el desarrollo en el fondo del tubo a los 6 días, con formación de un velo en la superficie a las 3 semanas. Los bacilos adoptan una disposición serpenteante, como si fueran cuerdas, carácter que está en íntima relación con la virulencia. Este aspecto granuloso impide medir por opacimetría la abundancia del cultivo, razón por la cual, para obtener cultivos homogéneos, se les añade Tween 80, que al ser lipófilo e hidrófilo dispersa los bacilos.

Entre los medios sólidos, destacan los que llevan como base huevo, soluciones de aminoácidos y minerales, y verde malaquita, que inhibe el crecimiento de los gérmenes acompañantes. Entre éstos se encuentran:

Medio de Löwenstein-Jensen. Las colonias de *M. tuberculosis* aparecen entre las 2-4 semanas, son rugosas (eugónicas), secas e irregulares, y semejan «migas de pan». *M. bovis* presenta un crecimiento disgónico.

Medio de agar-Middlebrook. *Mycobacterium* se desarrolla más precoz y abundantemente que en el medio anterior, pero las colonias tienen tendencia a ser lisas, razón por la cual la identificación resulta a veces difícil. Se emplea en paralelo con el anterior, para una interpretación más fácil.

Los métodos radiométricos constituyen un avance importante al reducirse notablemente el tiempo necesario para la detección, identificación y pruebas de sensibilidad.

Identificación

La identificación de *M. tuberculosis* debe encuadrarse dentro del proceso de identificación del género *Mycobacterium*. Son datos característicos la producción de niacina, reducción de nitratos y ausencia de catalasa a 68 °C. *M. bovis* no produce niacina ni reduce los nitratos.

Desde el punto de vista epidemiológico tiene interés la fagotipia de *M. tuberculosis*, que, aunque no está aún suficientemente estandarizada, permite la división en tres fagotipos, A, B y C, y algunos subtipos dentro de los anteriores. La serotipia no tiene interés y el estudio de micobactinas y micobacteriocinas no está estandarizado, aunque puede ser de interés en el futuro.

Inoculación experimental

El animal de elección, como se ha dicho, es el cobayo.

Los productos «estériles» se inoculan directamente, con adición o no de cuarzo micronizado estéril, que favorece la aparición de las lesiones. Previamente, el cobayo se ha sometido a una reacción a la tuberculina para comprobar que no es reactivo. La vía normal es la subcutánea, y se elige la cara interna de la pata posterior derecha. Si se trata de productos supercontaminados con otra flora (sobre todo esputos), se inoculan conjuntamente con 10 mg de aureomicina en polvo. La cantidad que hay que inocular de producto tra-

tado o no es de 1 a 2 ml. El cobayo se aísla y vigila periódicamente, y puede comprobarse en los casos positivos, a las 3-4 semanas, el chancro de inoculación.

El animal adelgaza y muere al cabo de 2 a 3 meses, y la autopsia muestra las típicas lesiones que se han descrito ya anteriormente.

A veces puede parecer que el resultado de la inoculación es negativo, al no presentar el animal lesiones locales o generales; en realidad se debe a que la inoculación fue de bacilos isoniazida-resistentes, que provocan lesiones leves y regresivas.

La inoculación experimental es para el diagnóstico un coadyuvante magnífico del cultivo y no una prueba definitiva cuando se emplea por separado.

Indirecto

Pruebas serológicas

Durante el primer cuarto de siglo se han usado tests serológicos de aglutinación, precipitación y fijación del complemento, con resultados muy dispares de unos investigadores a otros. Más recientemente se han empleado la hemaglutinación, aglutinación-látex, inmunofluorescencia, radioinmunoensayo, inmunoelectroforesis y ELISA. Los resultados de estas pruebas son difíciles de interpretar, siendo la técnica ELISA la que proporciona resultados más satisfactorios.

Pruebas alérgicas

Comprenden la prueba de la tuberculina ya descrita, cuya significación e interpretación epidemiológica se verá después.

TRATAMIENTO

Los fármacos antituberculosos corrientemente empleados son los que se reflejan en la tabla 47-1.

El régimen terapéutico de cualquier paciente debe estar basado en cuatro puntos:

1. Existencia o no de tratamientos previos.
2. Estudio *in vitro* de la sensibilidad del agente etiológico.
3. Riesgo de reacciones adversas a los fármacos.
4. Aceptación por el paciente, con objeto de que existan garantías de su realización.

El tratamiento debe asegurar la destrucción de los bacilos extracelulares de las lesiones cavitarias, bacilos extracelulares del *caseum* y bacilos intracelulares de los macrófagos. Los primeros se encuentran en un pH neutro y alcalino y se multiplican activamente; los segundos están en un pH neutro y se multiplican lenta e intermitentemente, y los terceros se hallan en un pH ácido y se multiplican lentamente.

De acuerdo con estos datos se consideran fármacos bactericidas los que destruyen los microorganismos que se multiplican activamente (SM, INH y RMP) y fármacos esterilizantes los que destruyen los bacilos persistentes, es decir, los que se multiplican lentamente (PZA, RMP y SM).

Tratamiento inicial

Pautas clásicas

En la actualidad apenas se emplean:

Asociación INH + SM (isoniazida y estreptomicina). Puede o no acompañarse de EMB (etambutol) durante un

Tabla 47-1. Fármacos antituberculosos corrientemente empleados

Fármaco	Contribución al régimen antituberculoso	Vía de administración	Dosis (mg/kg/día)	Toxicidad		Eficacia
				Manifestaciones	Frecuencia	
Isoniazida (INH)	Mayor	Oral	5-10	Hepática Neurológica	Rara	Alta
Rifampicina (RMP)	Mayor	Oral	10	Hepática Hematológica	Rara	Alta
Estreptomicina (SM)	Secundaria	Intramuscular	7-15	VIII par Renal	Común	Alta
Etambutol (EMB)	Secundaria	Oral	15-25	Neuritis óptica	Rara	Limitada, buen fármaco secundario
Acido paraamino-salicílico (PAS)	Secundaria	Oral	200	Intolerancia gastrointestinal	Común	Limitada, mala tolerancia
Pirazinamida (PZA)*	Secundaria	Oral	20-40	Hepática Hiperuricemia	Común	Eficaz, riesgo hepático
Etionamida (ETA)*	Terciaria	Oral	7-15	Intolerancia gastrointestinal Hepática	Común	Moderada, mala tolerancia
Cicloserina (CS)*	Terciaria	Oral	10-15	Psicopatía	Común	Limitada, rara vez indicada
Viomicina (CM)*	Terciaria	Intramuscular	15	VIII par Renal	Común	Moderada
Kanamicina (KM)*	Terciaria	Intramuscular	15	VIII par Renal	Común	Moderada
Capreomicina (CM)*	Terciaria	Intramuscular	15	VIII par Renal	Común	Moderada

*Uso restringido generalmente para el tratamiento de las recaídas.

período de 2 ó 3 meses. Se continuará con INH + EMB hasta un período total de 18-24 meses.

Asociación de INH + RMP (isoniazida + rifampicina). Tiene, además de su efectividad, la ventaja de poder aplicarse ambulatoriamente. Presenta el inconveniente del alto costo de la RMP y su toxicidad hepática, por lo que, si aparecen datos que indiquen ésta, debe retirarse la RMP temporal o permanentemente en relación con la gravedad de dicha afectación. En razón de esta toxicidad, a los 4-6 meses de tratamiento se continuará con INH + EMB hasta un total de 18-24 meses.

Tratamiento de corta duración

Se pensaba que el tratamiento inferior a 18 meses aumentaba el riesgo de recaída. No obstante, estudios últimamente realizados, en los que se han llevado a cabo regímenes de corta duración, con lo que disminuyen los riesgos de toxicidad y el coste y existen mayores garantías de que el paciente no abandone el tratamiento, han demostrado que la asociación INH + RMP es eficaz, particularmente si durante los 2 primeros meses se agrega etambutol, estreptomicina o pirazinamida.

Las dos pautas que se recomiendan son:

Tratamiento de nueve meses: INH + RMP durante los nueve meses, asociando EMB en los dos primeros.

Tratamiento de seis meses: INH + RMP durante seis meses, asociando EMB y PZA en los dos primeros. Tanto en esta pauta como en la anterior puede sustituirse EMB por SM.

Tratamiento intermitente

Los fármacos más empleados son las pautas de nueve meses: RMP + INH + EMB diariamente durante los dos primeros meses y RMP + INH, dos veces por semana, en los siete restantes.

Cuando exista una tuberculosis del SNC, se emplearán los fármacos capaces de alcanzar en él concentraciones eficaces. Los que más difunden son INH, CS (cicloserina) y ETA (etionamida). La inflamación meníngea puede facilitar la entrada de SM y RMP. Por tanto, el tratamiento que se aconseja es el de INH + RMP o SM + ETA o CS o EMB.

Tratamiento de las recaídas

En estos casos es completamente necesario valorar si el tratamiento anterior se efectuó correctamente y estudiar de nuevo la sensibilidad *in vitro*.

Los regímenes que más se emplean son los que incluyen la RMP y podemos sistematizarlos así:

1. Si el microorganismo permanece sensible a INH: RMP + INH.
2. Si el bacilo no es sensible a INH: RMP + SM + EMB o RMP + SM + PZA.
3. Si la bacteria es resistente a la estreptomicina, puede sustituirse ésta por capreomicina.
4. Etionamida, PAS y cicloserina, dada su poca eficacia y su toxicidad, sólo se emplearán cuando las pruebas *in vitro* indiquen que son los únicos fármacos activos.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

La tuberculosis es una enfermedad cosmopolita y, aunque ha descendido considerablemente en los últimos años, la mortalidad es aún importante. La fuente de infección es el hombre enfermo. Los pacientes no diagnosticados son los más peligrosos, ya que eliminan los bacilos al exterior, generalmente a través del esputo. El reservorio animal de *M. tuberculosis* tiene menos importancia, pero no así el de *M. bovis*.

El mecanismo fundamental de transmisión es por vía respiratoria a través de las gotas de Pflügge, núcleos goticulares de Wells y el polvo, dada la extraordinaria resistencia que presenta a los agentes externos (desecación, luz, pH, etc.). Las vías digestivas y el contacto cutáneo tienen menos importancia; la primera es más importante en las cepas de procedencia bovina. También se ha apuntado la posibilidad de contagio venéreo.

Es una enfermedad que afecta sobre todo las clases sociales más bajas y está relacionada con la miseria, hambre y malas condiciones higiénicas. La receptividad es mayor en la primera infancia y se han demostrado factores de receptividad genéticamente condicionados y factores favorecedores pulmonares.

La profilaxis correcta se basa en los siguientes puntos:

1. Lucha contra el reservorio humano mediante el diagnóstico precoz, tratamiento correcto y aislamiento de sujetos bacilíferos en hospitales adecuados.
2. Lucha contra el reservorio animal mediante el control de rebaños, reacción tuberculínica y vacunación sistemática.
3. Pasteurización de la leche *(M. bovis)*.
4. Vacunación.
5. Quimioprofilaxis.

Vacunación

La vacuna más empleada es la BCG (bacilo de Calmette y Guerin): vacuna viva obtenida a partir de una cepa de bacilo bovino, desprovista de virulencia mediante pases por patata biliada. La cepa BCG, después de 237 pases por este medio, pierde toda su virulencia para los animales de experimentación y es capaz de conferirles resistencia frente a una segunda inoculación de una cepa virulenta de bacilos tuberculosos.

Aunque existen varias vías posibles de inoculación, la más idónea es la intradérmica. Sólo deben vacunarse los tuberculín-negativos, ya que los reactores positivos pueden padecer un auténtico fenómeno de Koch, que a veces es grave.

La vacuna debe aplicarse durante el primer mes de vida o posponerla a la edad escolar, en este caso previa prospección tuberculínica que debe interpretarse de la siguiente forma:

1. Los individuos con reacción negativa a 5 UT de PPD-S y reacción positiva a 250 UT de PPD-S no deben ser vacu-

nados. Estos individuos pueden estar infectados por una micobacteria atípica, que puede ser identificada utilizando 5 UT de las sensitinas existentes.

2. Los individuos con reacción positiva a 250 UT de cualquier sensitina muestran una inmunidad mayor que la que confiere la BCG y tampoco serán vacunados.

3. Los individuos con reacción negativa a 5 UT y 250 UT de la PPD-S están expuestos y, si su ocupación o residencia así lo aconsejan, deben ser vacunados con BCG.

Las indicaciones de la vacunación no están bien establecidas y vienen determinadas mediante el contexto epidemiológico.

En general se acepta que en países o zonas de alto riesgo debe vacunarse a los recién nacidos, pues disminuye la incidencia de meningitis tuberculosa infantil.

El grado de protección que confiere la BCG está sometido a controversia y se señalan cifras tan dispares como 15 y 80 %, por lo que en algunos países sólo se aplica en individuos que por su trabajo tienen un alto riesgo de infección.

No se han conseguido resultados satisfactorios con otros tipos de vacunas (ribosómicas, muertas, con *M. microti*, etc.). Cuando se conozca mejor la inmunología de la tuberculosis, es posible que cambien las perspectivas.

Quimioprofilaxis

La administración de INH durante 6 meses ó 1 año, a la dosis de 300 mg en el adulto y de 5-10 mg/kg/día en el niño, previene la tuberculosis pulmonar activa.

Puesto que los individuos tuberculín-positivos tienen alto riesgo de desarrollar tuberculosis (reinfección endógena), teóricamente serían los idóneos para la quimioprofilaxis. Como esto es impracticable y, además, es un fármaco hepatotóxico, sólo se recomienda en las siguientes circunstancias:

1. En familiares y en quienes conviven con personas a las que recientemente se les ha diagnosticado una tuberculosis.

2. En individuos tuberculín-positivos con imágenes radiológicas visibles, no progresivas y «curadas».

3. En personas en las que la reacción tuberculínica se ha positivizado en los 2 últimos años.

4. En sujetos tuberculina positivos mayores de 20 años, tratados con corticoides e inmunosupresores, con silicosis o diabetes.

5. Menores de 5 años con reacción tuberculínica significativa.

Mycobacterium leprae

Aunque los conocimientos que se tienen acerca de la existencia de lepra humana se remontan a la antigüedad, el conocimiento científico del germen se inicia a mediados del siglo pasado. Se trata de una enfermedad que presenta unas características especiales:

1. *M. leprae*, el agente productor, se multiplica con extraordinaria lentitud, por lo cual la clínica se desarrolla de forma insidiosa y sin conocerse perfectamente los aspectos epidemiológicos.

2. El microorganismo no ha sido cultivado en medios artificiales y, en consecuencia, se conoce muy poco de sus características bacteriológicas.

3. Es la única enfermedad debida a micobacterias que tiene predilección por el sistema nervioso. Los factores que determinan este hecho son desconocidos.

4. No existen reservorios distintos al hombre, y tampoco se conocen artrópodos vectores.

5. No se dispone de métodos satisfactorios para detectar las infecciones inaparentes pasadas o presentes, razón por la cual los estudios epidemiológicos están basados únicamente en los casos clínicos detectados.

6. Es una enfermedad con un carácter eminentemente social.

M. leprae se presenta como un bacilo inmóvil, rectilíneo o ligeramente incurvado y con extremos redondeados, con un tamaño de 1-7 μ de longitud por 0,2-1,4 μ de anchura. Es grampositivo y no esporulado.

Se colorea uniformemente en rojo por el método de Ziehl-Neelsen. Es, por tanto, ácido-alcohol-resistente, aunque se colorea con mayor facilidad que *M. tuberculosis*. Acostumbra presentarse en agrupaciones de elementos paralelos que semejan paquetes de cigarrillos o formando masas esféricas o *globis* como consecuencia de su multiplicación intensa en el interior de los macrófagos. El germen se encuentra en la mucosa nasal, dermis y biopsias de las lesiones.

A diferencia de otras micobacterias, no se colorea en negro por el Sudán III y posee actividad fenolásica.

M. leprae no ha podido ser cultivado en medios habituales, aunque se ha intentado múltiples veces. Se ha conseguido su crecimiento mediante inoculación en la almohadilla plantar del ratón, pero la multiplicación queda limitada al sitio de la inoculación, lo que limita el campo de experimentación. La infección se intensifica bloqueando en el ratón los mecanismos de defensa por timectomía e irradiación total. La inoculación en la almohadilla plantar de los ratones así tratados produce un crecimiento mucho más abundante que en los animales no tratados, y las inoculaciones intravenosas producen infecciones graves y generalizadas. Kirchheimer y Storrs han señalado la producción de infección lepromatosa en el armadillo, 14 meses después de la inyección en el lóbulo de la oreja de bacilos leprosos procedentes de un caso de «lepra lepromatosa» no tratado.

M. leprae posee al menos 12 antígenos, algunos de los cuales son comunes a otras micobacterias y nocardias. Se trata de un parásito intracelular obligado, encontrándose principalmente en los histiocitos cutáneos y células de Schwann de los nervios.

PATOGENIA

Penetración

La puerta de entrada en el organismo humano es cutánea, con la piel previamente lesionada. No existen hechos que

demuestren la existencia de otras puertas de entrada: digestiva, pulmonar, nasal, etc.

Difusión en el organismo

Una vez franqueada la barrera cutánea, los bacilos se propagan fundamentalmente por vía nerviosa. Las células de Schwann de los nervios periféricos fagocitan los bacilos y se movilizan, permitiendo así el desplazamiento bacilar. Pero la difusión también puede hacerse por vía linfática hasta los ganglios linfáticos y a través de éstos surgen diseminaciones hematógenas. Esta última posibilidad linfohematógena es la más importante en la «lepra lepromatosa» y explica la existencia de múltiples colonizaciones.

Resistencia del organismo

Está comprobado que en condiciones idénticas de contagio unas personas padecen la lepra y otras no y unas desarrollan una forma lepromatosa y otras, tuberculoide. Se ha pensado en la existencia de un factor natural de resistencia, factor N, que haría que los sujetos que son sus portadores fueran resistentes a la «lepra lepromatosa». Este factor, probablemente hereditario, se desencadena por contactos con *M. leprae* u otras micobacterias y se traduce en la positividad de la reacción de Mitsuda. La aparición de la enfermedad en los contactos dependería de su resistencia. La ausencia de ésta determinaría la aparición de una forma lepromatosa, mientras que la existencia de cierto grado de resistencia podrá permitir el desarrollo de una forma tuberculoide.

A la hipótesis de este factor de resistencia (N) es necesario añadir la hipótesis de uno o varios factores de susceptibilidad (S): la incidencia de «lepra lepromatosa» es más alta en personas con grupo sanguíneo A y en portadores de antígeno Australia. Asimismo existirían factores de susceptibilidad de índole biológica (edad, sexo, raza, clima) y sociológicos que también actúan como condicionantes.

Aspectos inmunológicos

La *reacción a la lepromina de Mitsuda* consiste en buscar la susceptibilidad de una persona a *M. leprae*, inyectando por vía intradérmica, en la cara anterior del antebrazo, una suspensión en agua fisiológica de bacilos muertos por el calor. La lepromín-reacción de Mitsuda es positiva cuando en el lugar de la inyección aparece un nódulo, que alcanza su acmé a las 3 ó 4 semanas y cuyo diámetro es proporcional a la intensidad de la reacción. La interpretación es la siguiente:

Ausencia de nódulo	Negativa
Nódulo de 1-2 mm	± (dudosa)
Nódulo de 3-5 mm	+ (débilmente positiva)
Nódulo de más de 5 mm	+ + (fuertemente positiva)
Ulceración	+ + + (muy fuertemente positiva)

La reacción clásica de Mitsuda puede ir precedida de la *reacción precoz de Fernández*, que se manifiesta con un halo eritematoso, el cual alcanza su mayor intensidad al tercer día e indica una sensibilización del sujeto a los diferentes componentes constitutivos del germen.

La imagen histológica de la reacción tardía (reacción de Mitsuda), que es la única que tiene valor, muestra un infiltrado de tipo tuberculoide con células epitelioides y células gigantes de Langhans.

La positividad de la reacción de Mitsuda es uno de los criterios de la «lepra tuberculoide». En la «lepra lepromatosa» es siempre negativa. En las formas de comienzo («lepra indeterminada») es dudosa o generalmente negativa. En la forma «*borderline* lepromatosa» es negativa y en la «*borderline* tuberculoide», positiva.

Como esta reacción es positiva en las personas que viven en áreas endémicas de lepra o en contacto con otras micobacterias, no tiene valor diagnóstico, sino que es un testimonio de la resistencia del sujeto frente a la enfermedad leprosa.

La lepromín-reacción presenta un interés indiscutible en los contactos leprosos para determinar su resistencia a la lepra. Aquellos que den una reacción positiva resistirán a la enfermedad o desarrollarán una «lepra tuberculoide», que curará fácilmente si se trata de forma precoz. Por el contrario, aquellos que sean lepromín-negativos tienen el riesgo de desarrollar una forma lepromatosa y deberán realizar una quimioprofilaxis.

Ciertos hechos evidentes demuestran que los mecanismos de hipersensibilidad de tipo retardado desempeñan un papel importante en la determinación de los tipos patogénicos de enfermedad. Señalábamos antes que, cuando la capacidad inmunológica de un ratón se reduce mediante timectomía, además de irradiar el organismo entero, se observa un extraordinario aumento en la multiplicación de *M. leprae*, que, además, se disemina por el organismo y la piel. Su histología es entonces muy parecida a la que aparece en la «lepra lepromatosa» humana, lo que indica que los mecanismos de hipersensibilidad celular determinan bien el desarrollo de una «lepra tuberculoide», cuando existe una elevada inmunidad y la prueba de la lepromina es positiva, o bien una «lepra lepromatosa», cuando la inmunidad es baja y la prueba de la lepromina es negativa. Es decir, el patrón de infección está íntimamente relacionado con el grado subyacente de inmunidad mediada por células.

La «lepra lepromatosa» se caracteriza por la ausencia virtual de una respuesta inmunitaria celular específica contra *M. leprae*. Por lo tanto, la infiltración bacilar de los tejidos es extensa y la destrucción de los tejidos, mínima hasta que el padecimiento se encuentra ya muy avanzado. En la «lepra tuberculoide» ocurre lo contrario; la respuesta inmunitaria es lo suficientemente grave para dañar o destruir los bacilos y los nervios que están infectados. En definitiva, los enfermos susceptibles de «lepra lepromatosa» tienen algún defecto inmunitario relacionado con la alteración de reconocimiento de *M. leprae* que hace que éste sobreviva a los macrófagos. Está todavía por dilucidar si el defecto radica predominantemente en los macrófagos o en los linfocitos, aunque ciertos datos sugieren un defecto altamente específico de los linfocitos. No obstante, estudios llevados a cabo mediante microscopia electrónica indican que *M. leprae* puede evadir la actividad antimicrobiana escapando de los fagolisosomas y residir libre en el citoplasma de los macrófagos. El significado de estas observaciones aún no ha sido establecido.

La respuesta humoral de los dos tipos polares es diferente: en la «lepra tuberculoide» los títulos de anticuerpos son bajos, mientras que en la «lepra lepromatosa» son altos,

pero estos anticuerpos no tienen papel protector, sino que contribuyen a la aparición de complicaciones inmunológicas (tipo 2).

CLASIFICACION

Existen dos tipos polares de lepra: «tuberculoide» y «lepromatosa» y tres tipos intermedios de «lepra *borderline*». Además, hay una forma de comienzo o «lepra indeterminada».

La inmunidad celular del organismo a *M. leprae* es la que condiciona la forma clínica de la afección, la presencia o ausencia del bacilo en la lesión y su imagen histológica y anatomopatológica.

La infección habitualmente se desarrolla en la piel, y es probable que alcance los conductos sudoríparos. Las primeras lesiones cutáneas detectables están en la proximidad de las finas terminaciones nerviosas de la dermis, que son más abundantes alrededor de los folículos pilosos y pequeños vasos sanguíneos. El microorganismo se multiplica mejor en las partes más frías del organismo humano, como son la piel de la cara y la de los miembros, e invade los nervios más superficiales que existen a estos niveles. En el caso de lepra lepromatosa pueden ser alcanzados también órganos profundos (ojo, testículos, músculos).

El bacilo se multiplica en el interior de los macrófagos de la piel y especialmente en los de los nervios (células de Schwann) penetrando de esta última forma en las finas terminaciones nerviosas. Esto origina una respuesta inflamatoria de histiocitos y linfocitos, dando lugar clínicamente a una pequeña mácula en la piel, que es hipopigmentada en la oscuridad y eritematosa a la luz.

Esta es la lesión de la «*lepra indeterminada*», que no presenta datos acerca de cómo va a evolucionar. Muchas de ellas pasan inadvertidas, ya que un 70 % curan espontáneamente. Si la multiplicación de los bacilos supera los mecanismos de defensa o si éstos están disminuidos, la afección progresa y aparece una lepra «clínica», cuyo tipo va a depender de la respuesta del huésped, y aunque la respuesta inmune del hombre es doble (humoral y celular), el tipo de enfermedad depende sobre todo del grado de inmunidad celular desarrollada. Los anticuerpos no parece que intervengan en la defensa frente a *M. leprae*, pero contribuyen a la patología y cuadro clínico de la complicación inmunológica tipo 2, como se ha señalado antes.

Lepra tuberculoide

Cuando la inmunidad celular está bien desarrollada, el tipo de enfermedad que se produce es la «lepra tuberculoide», en la cual existe una afectación cutánea y nerviosa, pero no de mucosas u otros órganos, excepto los ganglios linfáticos y a veces el hígado.

Histológicamente existe un infiltrado local de células epitelioides y células gigantes, más a menudo tipo Langhans, y linfocitos, que se extiende a la zona subepidérmica de la piel. No existen bacilos ácido-alcohol-resistentes, o están presentes en muy pequeña cantidad, y los filetes nerviosos están invadidos por infiltraciones y destruidos en parte. No existe invasión del endotelio. La zona paracortical de los ganglios linfáticos, que es área timodependiente, y sus centros germinales, que contienen células plasmáticas, son normales. La lepromín-reacción es siempre positiva.

Lepra lepromatosa

Se observa en aquellas circunstancias en que la inmunidad celular no está desarrollada. Existe afectación cutánea, nerviosa, mucosa y de otros órganos.

Histológicamente, las lesiones están caracterizadas por infiltraciones granulomatosas donde las células predominantes son los histiocitos. No aparecen células gigantes de Langhans y los linfocitos son escasos. Existen células espumosas de Wirchow que son histiocitos viejos con citoplasma espumoso y con *globis* en su interior. Hay abundantes formaciones ácido-alcohol-resistentes. Las zonas subepidérmicas no están infiltradas. Los nervios y endotelio vascular están intactos, pero invadidos por bacilos. La zona paracortical de los ganglios linfáticos está reemplazada por histiocitos y bacilos, mientras que los centros germinales de estos ganglios, que están relacionados con la respuesta humoral, son prominentes y muy desarrollados. La bacteriología es siempre positiva en las lesiones y moco nasal y la reacción de Mitsuda es negativa.

Lepra «borderline»

Hay tres tipos de *lepra borderline: borderline, borderline tuberculoide* y *borderline lepromatosa*. En líneas generales constituyen formas intermedias entre la tuberculoide y la lepromatosa. La más frecuente es la *lepra borderline lepromatosa* próxima al tipo polar lepromatoso y que presenta una reacción a la lepromina generalmente negativa. La *lepra borderline tuberculoide* se parece a la lepra tuberculoide y la reacción de Mitsuda suele ser positiva.

La importancia de clasificar la lepra se deriva de los siguientes hechos:

1. En la lepra tuberculoide existe un daño nervioso importante; la lepra lepromatosa se caracteriza por su cronicidad y la importancia de sus complicaciones.
2. La forma tuberculoide puede curar espontáneamente, mientras que la lepromatosa no.
3. Las dos formas polares, tuberculoide y lepromatosa son en general inmunológicamente estables, por lo que no suelen ocurrir complicaciones inmunológicas del tipo 1. La lepra *borderline* es inestable y los cambios del estado inmunitario pueden provocar reacciones del tipo 1. Estas reacciones son a veces espontáneas y en otras ocasiones son desencadenadas por el tratamiento y van asociadas a un importante daño de múltiples nervios.
4. Los pacientes con lepra lepromatosa sufren con frecuencia reacciones del tipo 2, que son debidas a complejos antígeno-anticuerpo.

EVOLUCION CLINICA

La lepra evoluciona en tres períodos:

1. Período de incubación.
2. Período de invasión o de comienzo.
3. Período de estado.

M. leprae, desde la puerta de entrada cutánea, se disemina por vía nerviosa, linfática y sanguínea y según la forma de enfermedad, condicionada por la resistencia del sujeto, se puede fijar en la piel, nervios, mucosa nasal, faríngea y laríngea, ciertas vísceras y el ojo.

La evolución es lenta y se hace por fases que están separadas por intervalos de tiempo quiescentes más o menos largos.

Período de incubación

Es silencioso y muy difícil de determinar. Varía entre meses y años, y lo más admitido es de 2 a 4 años.

Período de comienzo

Está representado por la forma de «lepra indeterminada», así llamada por la poca especificidad de las lesiones histológicas y a causa de que la última respuesta del huésped no es aún aparente.

1. Los síntomas generales son raros. Por el contrario, los síntomas subjetivos preceden a las lesiones cutáneas: hormigueos, picor, etc.
2. Las lesiones cutáneas aparecen de una manera insidiosa. Son máculas planas, hipopigmentadas en la raza negra, dispuestas asimétricamente. Son abacilares y asiento de trastornos sensitivos y vasomotores. En algunos casos no hay modificación del aspecto de la piel, aunque existan trastornos de la sensibilidad (hipostésicas al calor y dolor) o cierta anhidrosis. No existe neuritis periférica.

Período de estado

En este período, la evolución va a depender del estado de resistencia del huésped.

Lepra lepromatosa

Las máculas se infiltran en el centro, se hacen más oscuras y eritematosas y el borde de ellas se borra.

Aparecen en oleadas otras máculas lepromatosas, que adoptan una disposición simétrica. Posteriormente se transforman en unas lesiones nodulares subcutáneas, rodeadas de una zona de infiltración y que son los lepromas difusos o circunscritos.

Además de estas lesiones cutáneas, aparecen lesiones mucosas de las vías aero-digestivas superiores, neuritis, manifestaciones linfáticas y viscerales, endocraneales y oculares.

Lepra tuberculoide

Las máculas adquieren una infiltración micropapulosa y eritematosa, sobre todo en los bordes, con superficie seca y escamosa.

Debido a la destrucción de gruesos troncos nerviosos (facial, cubital, ciático) por el granuloma tuberculoide de células epitelioides y gigantes, sobrevienen parálisis irremediables; a consecuencia de las lesiones vasculares neuríticas y simpáticas en las extremidades, aparecen trastornos tróficos, caracterizados por lesiones óseas a nivel de manos y pies y por perforantes plantares.

Modificaciones sanguíneas y humorales

1. Aumento de la VSG.
2. Proteína C-reactiva positiva en muchos casos.
3. Disminución de la albúmina y α y β-globulinas, con aumento de la γ-globulina.

Complicaciones inmunológicas: reacciones leprosas

El término reacción se usa para describir la aparición de síntomas y signos de inflamación aguda en las lesiones de un paciente que tiene lepra. Es importante diagnosticarlas y tratarlas con prontitud, porque cursan con una rápida y progresiva destrucción nerviosa. Existen dos tipos de reacciones.

Reacción tipo 1 (tipo IV de la clasificación de Gell y Coombs)

Es una reacción de hipersensibilidad celular, que se caracteriza por un cambio en el grado de inmunidad celular que presentaba hasta entonces el paciente. Se da en la lepra *borderline*. Este cambio puede producirse en dos direcciones:

1. Reacción reversible *(reversal reaction)* o reacción de incremento de la inmunidad, que consiste en una subida del estado de inmunidad celular que cambia de esta forma hacia el polo tuberculoide.
2. Reacción de decremento *(downgrading reaction)*, con un descenso del estado de inmunidad celular que tiende de esta forma hacia el estado inmunitario del polo lepromatoso.

La reacción reversible aparece generalmente como consecuencia del tratamiento, en tanto que las reacciones de descenso sólo aparecen cuando el tratamiento no es correcto y a menudo son desencadenadas por la pubertad o el parto. Clínicamente, ambas reacciones son indistinguibles. Se caracterizan por los siguientes datos:

1. Las lesiones cutáneas existentes se vuelven rápidamente eritematosas y edematosas. Al mismo tiempo surgen lesiones nuevas.
2. Afectación nerviosa rápida e importante: parestesias, disminución funcional y parálisis.
3. Fiebre, malestar general, edema generalizado, postración. Pueden conducir a la muerte si no se tratan.

La causa de esta inflamación aguda, que es el hecho esencial de este tipo de reacciones, es un cambio repentino de la hipersensibilidad celular, lo que se demuestra en que existe un brusco incremento de la transformación linfocítica, posiblemente en respuesta a los antígenos liberados por la multiplicación y destrucción de bacilos.

Reacción tipo 2 (tipo III de la clasificación de Gell y Coombs)

Es una reacción de hipersensibilidad humoral. Es debida a una reacción antígeno-anticuerpo con formación de inmunocomplejos que se depositan en varios tejidos y originan focos inflamatorios locales. Este tipo de reacciones se dan en la lepra lepromatosa y pueden ocurrir espontáneamente o debidas al tratamiento.

Las dos consecuencias clínicas más importantes son el eritema nodular lepromatoso y el eritema necrosante:

Eritema nodular lepromatoso. Es una complicación de la lepra lepromatosa y resulta de una reacción inmunitaria cutánea de tipo Arthus con depósito de complejos inmunitarios circulantes en piel, articulaciones y riñones. Casi el 50 % de los enfermos con lepra lepromatosa presentan eritema nodular lepromatoso, que puede ocurrir de manera espontánea, pero muy a menudo aparece después del inicio de la quimioterapia. El eritema nodular lepromatoso se caracteriza histológicamente por vasculitis y paniculitis, y sintomáticamente por aparición de centenares de lesiones nodulares cutáneas rojizas, calientes y dolorosas que aparecen diseminadas por toda la superficie corporal. Esta complicación está asociada con síntomas oculares graves, nerviosos, renales, etc. El descubrimiento reciente de que el eritema nodular lepromatoso se elimina con rapidez mediante la talidomida ha revolucionado el enfoque terapéutico de este difícil problema.

Eritema necrosante («Lucio phenomenon»). Parece ser una variante del eritema nodular lepromatoso, en el cual la vasculitis necrosante produce grandes lesiones poligonales nodulares, caracterizadas por ulceración y esfacelo de zonas extensas de piel. Puede ser peculiar de grupos étnicos específicos.

DIAGNOSTICO

Además de la valoración de los datos clínicos, estudio de las lesiones cutáneas y mucosas, exploración de los nervios periféricos y de la sensibilidad y estudio histológico de las lesiones mediante biopsia, el diagnóstico debe basarse en el estudio bacteriológico y serológico, y pruebas cutáneas.

Diagnóstico bacteriológico

Puede buscarse *M. leprae* en las lesiones cutáneas con preferencia en los bordes de la lesión y fundamentalmente en el moco nasal. La tinción se realiza con el método de Ziehl-Neelsen y debe considerarse siempre la posible presencia de otras formaciones ácido-alcohol-resistentes que no son *M. leprae*.

En tejidos parafinados se obtienen mejores resultados con la técnica de Wade-Fite que con la de Ziehl-Neelsen.

Las tinciones dan resultado positivo en los casos de lepra lepromatosa y suelen darlo en la lepra *borderline* lepromatosa.

A partir de las lesiones puede investigarse la actividad fenolásica para diferenciar *M. leprae* de otras micobacterias.

La densidad de gérmenes se expresa como índice bacteriológico y el porcentaje de bacilos fuertemente teñidos, como índice morfológico (los bacilos que se tiñen de forma irregular son pleomorfos o están fragmentados y suelen ser formas muertas).

Diagnóstico serológico

Estudio de la inmunidad humoral

Las formas lepromatosas tienen anticuerpos a títulos altos en la fase activa, que descienden con el tratamiento. Las formas tuberculoides tienen escasos anticuerpos. Las reacciones que más se emplean son la desviación del complemento, la hemaglutinación y la inmunofluorescencia, pero su valor es escaso. Los antígenos que se emplean son de *M. leprae* o de otras micobacterias.

Estudio de la inmunidad celular

En la forma tuberculoide, los linfocitos de estos pacientes, cultivados *in vitro* en presencia de *M. leprae*, se transforman en blastos, activan los macrófagos e inhiben su migración. Estos hechos no se dan en las formas lepromatosas.

Pruebas cutáneas

Reacción a la lepromina

Ya ha sido estudiada. Tiene valor diagnóstico (conocer el tipo de lepra) y pronóstico.

Test de la histamina (reacción de Rodríguez Pinilla)

A diferencia de lo que ocurre en la piel sana, en la piel de las lesiones leprosas no se produce la triple reacción de Lewis cuando en ella se inyecta histamina, debido a la interrupción del reflejo axónico por estar lesionados los nervios periféricos.

Test de la pilocarpina

Se basa en la ausencia de sudoración en la piel lesionada después de la inyección en ella de clorhidrato de pilocarpina. La observación se favorece pincelando la piel con tintura de yodo y espolvoreando después almidón, que, al disolverse en el sudor, forma yoduro de almidón de color azul.

TRATAMIENTO

En la lepra lepromatosa, aunque la mayor parte de los bacilos desaparecen de las lesiones cutáneas y moco nasal a los 3-6 meses del inicio del tratamiento, éste deberá prolongarse hasta la desaparición completa de *M. leprae* de las lesiones cutáneas (unos 5 años). Sin embargo, para evitar las recaídas de aquellos cuya reacción a la lepromina continúa

siendo negativa, puede necesitarse incluso un tratamiento durante toda la vida.

En la lepra tuberculoide, el tratamiento debe prolongarse, al menos, durante 1 ó 2 años después de la curación de las lesiones.

Antimicrobianos

Dapsona

La DDS (4,4'-diaminodifenil-sulfona) es un bacteriostático que posiblemente interfiere con la síntesis de ácido fólico. Es el antimicrobiano de elección. Dosis de 50-100 mg por vía oral producen niveles séricos muy superiores a la CMI de *M. leprae*.

La dosis de comienzo, para evitar las reacciones leprosas, será pequeña: 25 mg/día durante 1 mes. Esta dosis será aumentada a 50 mg/día al mes siguiente. Al tercer mes se administrarán 75 ó 100 mg/día. Es conveniente que el enfermo descanse 1 día por semana.

También se han obtenido buenas respuestas con dosis únicas semanales de 200-500 mg, ya que persisten concentraciones efectivas en suero durante 7 días.

A causa de que algunos pacientes acetilan rápidamente la DDS inactivándola, los regímenes con dosis inferiores a las señaladas no son aconsejables. Como se han descrito numerosas cepas de *M. leprae* resistentes a la DDS, algunos la emplean asociándola a rifampicina.

Acedapsona

Una inyección intramuscular de diacetil-difenil-sulfona (DADDS) produce concentraciones séricas de DDS que se mantienen durante 75 días y, a pesar de ser superiores a la CMI que precisa *M. leprae*, son bajas, por lo que no debe usarse en la lepra lepromatosa avanzada. Puede emplearse en formas poco bacilares en aquellas áreas geográficas que no tienen una asistencia médica regular, así como en la quimioprofilaxis de la lepra.

Clofazimina

Es el tratamiento de elección en las formas resistentes a la DDS. La dosis habitual es de 100 mg por vía oral, dos veces por semana. Si se emplea a dosis más alta, 300 mg/día, además de la acción antileprosa, tiene una acción antirreaccional. Ocasiona una pigmentación oscura de la piel y conjuntivas, que puede persistir varios meses después de finalizar el tratamiento.

Rifampicina

Se obtienen con ella excelentes resultados clínicos, a dosis de 600 mg/día.

En la actualidad se recomienda la asociación de dapsona, rifampicina y clofazimina. Si esta última no es bien tolerada, puede sustituirse por etionamida. Se están buscando posibilidades alternativas, y la inmunoterapia puede ser un arma eficaz en el futuro.

Tratamiento de los estados reactivos

Se basa en el empleo de antiinflamatorios (aspirina, corticoides), en las complicaciones inmunológicas del tipo 1, y de corticoides y talidomida (con las necesarias precauciones), en el eritema nodular leproso.

Como ya se ha señalado antes, la clofamizina puede impedir la presentación de cuadros reaccionales de eritema nodular leproso.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

En Europa, la lepra ha ido desapareciendo y sólo existen algunos focos en España y Portugal. No obstante, se está asistiendo a una nueva ofensiva como consecuencia del movimiento de poblaciones, pues esta enfermedad continúa siendo endémica en algunas áreas geográficas de Asia, Africa y América del Sur.

La fuente de infección parece ser exclusivamente humana. No obstante, no debe descartarse la posibilidad de existencia de un reservorio animal.

El hombre enfermo elimina bacilos de sus lesiones cutáneas y nasales. También se han encontrado formaciones ácido-alcohol resistentes en esperma, leche y otros humores. Las formaciones más bacilíferas son las lepromatosas.

El mecanismo de transmisión es por contacto directo o indirecto (vestidos, instrumental quirúrgico, etc.), a través de la piel sana, pero sobre todo traumatizada o erosionada; se acepta que generalmente es necesario un contacto mantenido durante años. No obstante, como el período de incubación no se conoce con exactitud, en muchos casos resulta difícil asegurarlo.

Como factores secundarios merecen señalarse la existencia de factores de resistencia individual (factores N) y la superior, aunque ligera, prevalencia en el sexo masculino, en la raza negra, en climas tropicales y en zonas de bajo nivel socioeconómico. Ya hemos señalado también la relación con el grupo sanguíneo A y el antígeno Australia.

La profilaxis debe realizarse fundamentalmente en zonas endémicas y debe estar basada al menos en tres puntos:

1. Diagnóstico precoz, con aislamiento en instituciones adecuadas, fundamentalmente de las formas lepromatosas.
2. Quimioprofilaxis de los contactos con enfermos lepromatosos: administración de DDS o DADDS durante 1 año, sobre todo en niños.
3. Vacunación con BCG de todos los niños de las áreas geográficas endémicas si son tuberculín-negativos y lepromín-negativos, pues está comprobado que la vacunación con BCG produce el viraje de la tuberculina y de la lepromina. Los resultados de protección obtenidos oscilan entre el 30 y 80 %. Esta protección es sólo frente a la lepra tuberculoide; no existen datos sobre la protección que confiere para la lepra lepromatosa.

Algunos expertos no recomiendan la vacunación con BCG, sobre la base de que la protección que confieren es dudosa.

Micobacterias atípicas

Existen micobacterias diferentes de las que producen la tuberculosis y la lepra, que tienen poder patógeno humano comprobado, fundamentalmente *M. kansasii* y el complejo *M. avium-intracellulare-scrofulaceum.*

Este grupo de micobacterias han recibido múltiples denominaciones: bacilos paratuberculosos, bacilos pseudotuberculosos, micobacterias no clasificadas, micobacterias anónimas, micobacterias atípicas, micobacterias oportunistas, micobacterias no tuberculosas y micobacterias tuberculoides.

Ninguno de estos términos está exento de críticas. Los de micobacterias anónimas o no clasificadas está claro que no deben ser admitidos y el de micobacterias oportunistas tampoco, pues algunas de las infecciones que originan acontecen en pacientes sanos que no tienen deficiencias inmunológicas, como habitualmente ocurre en otras infecciones por oportunistas. Los dos términos más empleados son el de micobacterias no tuberculosas y micobacterias atípicas. Las enfermedades producidas por éstas han recibido igualmente múltiples denominaciones: pseudotuberculosis, infecciones micobacterianas no tuberculosas, tuberculosis debida a «la especie» y micobacteriosis. Parece claro que no deben llamarse «tuberculosis debida...» a causa de las marcadas diferencias que existen entre los dos tipos de enfermedades en lo que se refiere a la patogenia, epidemiología, pronóstico y resultado del tratamiento. El término más correcto es el de micobacteriosis.

La importancia de estas afecciones viene dada por:

Tabla 47-2. Clasificación de las micobacterias atípicas

Grupo de Runyon	Definición	Especies reconocidas	Especies rechazadas	Posibles equivalencias
I	Crecimiento lento y fotocromógenos: formación de pigmento amarillo cuando se exponen a la luz	*M. kansasii**	*M. luciflavum*	*M. lycopinogenes*
		*M. marinum**	*M. balnei*	
			M. platypoecilus	
		*M. simiae**		
		M. asiaticum		
II	Crecimiento lento y escotocromógenos: formación de pigmento amarillo, naranja o rojo cuando son expuestos a la luz, pero también en la oscuridad	*M. scrofulaceum**	*M. marianum*	*M. paraffinicum*
				M. ceroformans
				M. aquae
		M. gordonae		
		M. flavescens	*M. acapulense*	
			M. termorresistible	
		*M. szulgai**		
III	Crecimiento lento y no cromógenos: pigmentación muy lenta o ausente	*M. xenopi**	*M. xenopei*	
			M. littorale	
		Complejo *M. avium**	*M. batteyi*	*M. intracellulare*
				M. brunense
		*M. malmoense**		*M. elephantis*
		*M. ulcerans**	*M. buruli*	
		M. paratuberculosis	*M. johnei*	
		M. gastri		
		M. terrae		*M. nonchromagenicum*
				M. novum
				M. triviale
IV	Micobacterias de crecimiento rápido	*M. smegmatis*	*M. butyricum*	
			M. lacticola	
		M. phlei		
		M. vaccae		*M. parafortuitum*
				M. aurum
		M. fortuitum	*M. ranae*	*M. peregrinum*
			M. giae	
			M. minetti	
			M. salmoniphilum	
		M. diernhoferi		
		M. chelonae subsp. *chelonae*	*M. borstelense*	*M. chitae*
				M. gallinarum
		M. chelonae subsp. *abscessus*	*M. abscessus*	
			M. runyonii	
			M. piscium	
			M. friedmannii	

*Especies patógenas para el hombre.

1. Su frecuencia en patología humana y la variedad de procesos a los que puede dar lugar. Los más frecuentes son de localización pulmonar, en los ganglios linfáticos, en la piel y en el tejido subcutáneo.

2. Su mecanismo y vías patogénicas no son bien conocidos, en parte porque los animales de experimentación habituales no son sensibles a estas micobacterias.

3. Porque, aunque pueden afectar a personas aparentemente sanas, inciden fundamentalmente en pacientes inmunodeprimidos y con alteraciones hematológicas, lo que condiciona una extraordinaria gravedad.

4. Aunque las técnicas de diagnóstico e identificación están muy desarrolladas, presentan todavía problemas taxonómicos y de identificación de especies.

5. Muchos de los agentes etiológicos tienen una sensibilidad distinta a *M. tuberculosis*, y como clínicamente los cuadros que originan, fundamentalmente los pulmonares, se prestan a confusión con la tuberculosis, es necesario para su tratamiento adecuado efectuar un diagnóstico microbiológico correcto y posterior antibiograma.

6. La mayor parte de las especies patógenas se encuentran en el medio ambiente, pero se conoce muy poco aún de sus características epidemiológicas y, en consecuencia, no existe una profilaxis válida.

CLASIFICACION

En 1959, Runyon sugiere la clasificación de las micobacterias atípicas, desde un punto de vista práctico, en cuatro grupos sobre la base de la morfología de las colonias, pigmentación y velocidad de crecimiento. Como clasificación, ofrece un alto valor para otros estudios bacteriológicos, clínicos y epidemiológicos, pero no da una estandarización taxonómica que permita la designación de especies.

Durante los últimos años, la investigación en este campo ha sido muy abundante y por estudios de taxonomía numérica y con ayuda de nuevas técnicas, como serotipia, aglutinación, fagotipia, estudios de homología del ADN, análisis lipídico por cromatografía y estudio de sensitinas (elicitinas o endotuberculinas), etc., se han descrito nuevas especies que han aumentado aún más el confusionismo taxonómico.

Los estudios que han proporcionado una base más científica para la identificación y separación de las especies del género *Mycobacterium* han sido los del International Working Group on Mycobacterial Taxonomy (IWGMT), y se ha llegado a la conclusión de que la clasificación de Runyon debe ser modificada. Desde un punto de vista didáctico juzgamos práctica la que aparece en la tabla 47-2.

La especie más importante del grupo I es *M. kansasii*, que, aunque es similar a *M. tuberculosis* en lo que se refiere a la lentitud de crecimiento de las colonias, se diferencia de él por la propiedad de la fotoinducción y la no producción de niacina. Es una micobacteria con poder patógeno comprobado. *M. lycopinogenes*, aislado originalmente como una mutante fotocromógena de color rojo de *M. kansasii*, parece una especie distinta sobre la base de sus propiedades bioquímicas.

M. scrofulaceum, agente de infecciones pulmonares en adultos y de adenitis cervical en niños y que puede existir como saprofito de agua y suelo, puede ser una variante pigmentada de *M. intracellulare*.

M. flavescens es saprofito y no se considera productor de enfermedades en el hombre. Algunos le incluyen en el grupo IV.

M. avium y *M. intracellulare* son variantes de la misma especie. Por sus implicaciones clínicas se ha sugerido que ambos deben considerarse en conjunto como complejo *M. avium*. Ultimamente se habla de complejo *M. avium* (*M. avium* y *M. intracellulare*).

M. terrae, *M. nonchromogenicum* y *M. triviale* forman un grupo taxonómico complejo (complejo *M. terrae*). *M. terrae* puede ser sinónimo de *M. nonchromogenicum* y *M. triviale*, una variante de *M. novum*.

Tabla 47-3. Clasificación de las micobacterias

Micobacterias potencialmente patógenas para el hombre	Micobacterias no patógenas para el hombre (excepto en circunstancias especiales)
A. Complejo tuberculosis y lepra	1. De crecimiento lento
M. tuberculosis	*M. gordonae*
M. bovis	*M. gastri*
M. africanum	*M. nonchromogenicum*
M. leprae	*M. flavescens*
M. lepraemurium	2. De crecimiento rápido
	M. smegmatis
B. Micobacterias no tuberculosas	*M. vaccae*
1. De crecimiento lento	
Complejo *M. avium*	
M. scrofulaceum	
M. malmoense	
M. kansasii	
M. ulcerans	
M. marinum	
M. xenopi	
M. szulgai	
M. simiae	
2. De crecimiento rápido	
M. fortuitum	
M. chelonae	

Modificado de Wolinsky, E., 1979.

M. fortuitum tiene dos subespecies: *M. fortuitum* subespecies *fortuitum* y *M. fortuitum* subespecie *peregrinum*. También se considera la existencia del complejo *M. bovis* (*M. bovis*, BCG y *M. africanum*).

Sobre la base de los últimos hallazgos, las micobacterias pueden separarse en dos grupos: las que son patógenas para el hombre y las que no lo son, salvo en circunstancias excepcionales (tabla 47-3).

Por último, es necesario señalar que algunas de las especies se han dividido en serotipos:

ACCION PATOGENA

Los cuadros patógenos más importantes producidos por micobacterias atípicas son los que aparecen en la tabla 47-4.

Se conocen pocos datos acerca de la transmisión, patogénesis, respuestas histológicas e inmunológicas de las infecciones por estas especies, debido en parte a que no son patógenas para los animales que suelen emplearse experimentalmente. Toda la información, por tanto, deriva de las observaciones y estudios sobre casos de enfermedad humana.

La puerta de entrada en el organismo es múltiple:

1. Inhalación por vía respiratoria.
2. Penetración a través de la mucosa de la orofaringe (amígdalas).
3. Inoculación percutánea.
4. Vías conjuntival y digestiva (tienen menos importancia).

En el primer caso aparecen las infecciones pulmonares, en el segundo, las adenitis cervicales y en el tercero, las infecciones de piel y tejidos blandos.

Enfermedad pulmonar

Etiología

Las especies que se implican son *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. szulgai*, *M. simiae*, *M. scrofulaceum*, *M. fortuitum* y *M. chelonae*.

Factores predisponentes

La mayor parte de los estudios refieren que las afecciones se presentan fundamentalmente en la época media de la vida, en personas que padecen procesos pulmonares crónicos. La existencia de lesiones pulmonares previas se ha encontrado siempre en las micobacteriosis pulmonares producidas por *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. scrofulaceum*. Están igualmente presentes en la mayor parte de los cuadros producidos por *M. avium-intracellulare* y en la mitad de los producidos por *M. kansasii*. Las causas predisponentes más frecuentes son neumoconiosis, tuberculosis, bronquitis crónica y obstructiva, bronquiectasias y aspiraciones broncopulmonares en enfermedades esofágicas y silicosis. Se han señalado también como factores de riesgo las enfermedades malignas (cáncer).

Patogenia

La enfermedad en niños y jóvenes es extraordinariamente rara. La patogénesis de la enfermedad en el adulto es oscura, pues no se sabe si es el exponente de una primoinfección o es la reactivación de bacilos existentes en el pulmón y adquiridos previamente. Los resultados de las pruebas cutáneas en niños y jóvenes indican que la infección se produce habitualmente en la primera edad. Sin embargo, a favor de la infección primaria de los adultos está el hecho de

Tabla 47-4. Resumen de la etiología de las micobacteriosis

Enfermedades	Especies más frecuentes	Otras
Infección pulmonar crónica en adultos	Complejo *M. avium* *M. kansasii*	*M. xenopi*, *M. szulgai*, *M. simiae*, *M. scrofulaceum*, *M. fortuitum*
Linfadenitis local en niños	*M. scrofulaceum* Complejo *M. avium*	*M. kansasii*, *M. chelonae*, *M. fortuitum* *M. szulgai*
Piel y tejidos blandos:		
Granuloma de las piscinas	*M. marinum*	
Esporotricoidosis	*M. marinum*	
Absceso local Ulcera de Buruli	*M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. ulcerans*	
Esqueleto (hueso, articulaciones, tendón)	*M. kansassii* Complejo *M. avium*	*M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. terrae*
Diseminadas	Complejo *M. avium* *M. kansasii*	*M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*
Corneales		*M. fortuitum*

Modificado de Wolinsky, E., 1979.

su presentación en edades medias con enfermedades pulmonares destructivas preexistentes.

Existen pocas descripciones detalladas de la patología pulmonar, y las observaciones están basadas en los estudios realizados en tejidos pulmonares resecados y en los exámenes *post mortem* de personas que fallecieron como consecuencia de enfermedades diseminadas, lo que normalmente sucede en individuos inmunológicamente afectados.

La enfermedad pulmonar es histológicamente similar a la que se observa en la tuberculosis:

1. Formación de tubérculos.
2. Caseificación.
3. Formación de cavernas.
4. Diseminación broncógena.
5. Curación por fibrosis.

No obstante, a diferencia de lo que ocurre en la tuberculosis, la invasión pleural, las diseminaciones linfohematógenas a distancia y los focos extrapulmonares son raros (excepto la linfadenitis cervical en niños).

El desarrollo de una hipersensibilidad retardada de base celular puede ponerse de manifiesto mediante la inyección intradérmica de las PPD (sensitinas) de estas micobacterias. La reacción cutánea que se produce es mayor con la sensitina homóloga que con la PPD-S.

Manifestaciones clínicas

Los signos clínicos y radiológicos, cualquiera que sea el agente causal, no son distintos de los clásicos síntomas de la tuberculosis: astenia, adelgazamiento, palidez, cansancio, fiebre o febrícula, que no permiten establecer un diagnóstico diferencial con aquélla.

El paralelismo se mantiene asimismo en el estudio radiológico, ya que la finura habitual de las paredes cavitarias, la discreción de las lesiones retráctiles y la rareza de espesamientos pleurales, señalados por algunos autores, no permiten orientación diagnóstica alguna.

Linfadenitis

Agentes etiológicos

Las especies implicadas son *M. scrofulaceum, M. avium-intracellulare, M. kansasii, M. fortuitum, M. chelonae* y *M. szulgai.*

Patogenia

La vía de infección de los ganglios linfáticos no está clara. A través de heridas cutáneas se han comunicado adenitis inguinales y epitrocleares. También se ha sugerido como puerta de entrada de las primeras la vagina.

Las adenitis cervicales parecen tener su origen en la boca y garganta, pero rara vez esto se ha podido demostrar claramente. La adenitis submandibular del niño parece tener su origen en traumatismos de la mucosa gingival y faríngea.

El grado de lesión varía desde la formación de tubérculos a la caseificación. A diferencia de las lesiones tuberculosas, existen pocas células gigantes.

Manifestaciones clínicas

La mayor parte de los casos se presentan en niños entre 1,5-5 años. Generalmente son de localización cervical y submandibular. También pueden producirse en los ganglios preauriculares, postauriculares, inguinales, femorales, epitrocleares y axilares. La afección suele ser unilateral y aparece como una tumoración, poco o nada dolorosa, que no suele ir acompañada de manifestaciones generales. Con frecuencia son varios los ganglios afectados, que rápidamente progresan y se abren al exterior con supuración. A veces, su progresión es muy débil y permanecen estacionarios varios años e incluso remiten. La curación, la mayor parte de las veces, es por fibrosis y calcificación.

Piel y tejidos blandos

Agentes etiológicos

Los más frecuentes son *M. fortuitum, M. chelonae, M. marinum, M. ulcerans* y *M. kansasii.*

Manifestaciones clínicas

Las variantes son múltiples:

Lesiones cutáneas diseminadas y nodulares multicéntricas. La mayor parte de las veces se presentan en personas sanas en forma de lesiones nodulares que se ulceran. Generalmente se afectan también los ganglios linfáticos próximos.

Abscesos localizados. Casi siempre están localizados en los lugares de inyecciones, traumatismos y heridas.

Granulomas y úlceras cutáneas. Son las afecciones más frecuentes de los tejidos blandos. El «granuloma de las piscinas» y el «granuloma de los acuarios» son dos lesiones parecidas, que aparecen en personas que viven en medios marinos. El agente etiológico es *M. marinum.* Las lesiones suelen manifestarse en forma de pápulas, que acaban ulcerándose y se recubren de una costra. Otro tipo de afectación de la piel, también producida por *M. marinum,* es la llamada «esporotricoidosis», a causa de que se parece a la esporotricosis, que se manifiesta en forma de abscesos localizados, acompañados de nódulos secundarios y que progresan hacia los vasos linfáticos. Por último, existen lesiones necróticas de la piel y tejidos blandos, de curso indolente, que se conocen como «úlcera de Bairnsdale» en Australia y «úlcera de Buruli» en Africa. El agente etiológico es *M. ulcerans;* se observan fundamentalmente en áreas tropicales y cursan con un nódulo eritematoso, en el brazo o pierna, que progresa gradualmente y acaba dando una úlcera de fondo necrótico y bordes mal delimitados. Se produce sobre todo en niños y la lesión es única, lo cual sugiere la posibilidad de

Tabla

				Grupo I		Grupo II		
	M. tuberculosis	*M. africanum*	*M. bovis*	*M. kansasii*	*M. marinum*	*M. scrofulaceum*	*M. gordonae*	*M. flavescens*
Velocidad de crecimiento	L	L	L	L	L	L	L	L
Producción de niacina	+	−	−	−	−	−	−	−
Reducción de nitratos	+	±	−	+	−	−	−	+
Catalasa, 68 °C/20 min	−	−	−	+	±	+	+	+
Pigmentación en la oscuridad	−	−	−	−	−	+	+	+
Pigmentación a la luz	−	−	−	+	+	−*	−*	−
Hidrólisis de Tween-80 (5 días)	−	−	−	+	+	−	+	+
Reducción del telurito (3 días)	−	−	−	−	−	−	−	−
Tolerancia al ClNa	−	−	−	−	−	−	−	+
Arilsulfatasa (3 días)	−	−	−	−	−	−	−	−
Agar-MacConkey	−	−	−	−	−	−	−	−
Capas ensayadas	239	4	61	144	65	94	130	25
Significación clínica	+	+	+	+	+	+	−	−

Modificado de Willet, H. P.: Zinsser Microbiology, 1984.
*La pigmentación puede intensificarse con exposición prolongada a la luz.
**La pigmentación aumenta con el tiempo y es independiente de la exposición a la luz.

que su origen sea el contacto directo con alguna planta o sea vehiculada por reptiles.

Otras infecciones

Existen muy pocas observaciones en este campo y las lesiones son variadas y frecuentemente inespecíficas:

Huesos y articulaciones

Las infecciones a este nivel son consecuencias de traumatismos, heridas o intervenciones quirúrgicas y no van asociadas a enfermedades diseminadas. Se han descrito las siguientes: infecciones sinoviales, tendinitis, bursitis y artritis *(M. kansasii, M. avium-intracellulare)*; infecciones de vértebras dorsales y lumbares *(M. kansasii, M. fortuitum)*; infecciones del calcáneo *(M. fortuitum)* y del hueso cuneiforme *(M. xenopi)*; infecciones dentales *(M. fortuitum)* y osteomielitis del esternón *(M. chelonae)*.

Aparato genitourinario

Son poco frecuentes y se han señalado para *M. kansasii* y *M. avium-intracellulare*. También se han descrito epididimitis por *M. xenopi*.

Meningitis

Existen algunas publicaciones en las que se señalan casos producidos por *M. kansasii* y *M. avium*.

Infecciones corneales

Son las provocadas por *M. fortuitum* y *M. chelonae*.

Tiroiditis

Producida por *M. chelonae*.

Infecciones diseminadas

Se asocian a estados de hemopatías malignas y de inmunodeficiencia. Su patogénesis es oscura y afectan más a menudo al niño que al adulto. Cursan con fiebre anárquica, hepatoesplenomegalia y adenopatías. Los agentes etiológicos más importantes son *M. kansasii, M. chelonae* y *M. fortuitum*.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico debe ser de tipo microbiológico, ya que clínica y radiológicamente presentan muchas similitudes con tuberculosis y otras enfermedades crónicas.

Directo

Tinción

En todo cuadro clínico sospechoso se efectuará a partir de los productos patológicos (esputos, ganglios, úlceras, etc.) un examen microscópico con tinción previa por el método de Ziehl-Neelsen o cualquiera de las técnicas de fluorescencia que normalmente se emplean (auramina, naranja de acridina, rojo de tiazina, etc.), lo cual nos permitirá conocer la existencia o no de formaciones ácido-alcohol-resistentes.

Aislamiento y cultivos

Previa descontaminación del producto por una de las técnicas adecuadas (Petroff, Tacquet y Tison, Langerova, etc.), se procederá al cultivo en medios sólidos (Löwenstein-Jensen o Coletsos o ambos) mejor que en líquidos (caldo Dubos, Middlebrook 7H10, etc.).

El aspecto de las colonias, en particular la morfología, pigmentación, temperatura óptima de desarrollo (entre 22 y 52 °C) y la velocidad de crecimiento (entre 2 días y 10 semanas) son factores a considerar.

47-5

Grupo III						Grupo IV				
M. xenopi	*M. avium*	*M. intracellulare*	*M. gastri*	*M. terrae complex*	*M. triviale*	*M. fortuitum*	*M. chelonae*	*M. vaccae*	*M. smegmatis*	*M. phlei*
L	L	L	L	L	L	R	R	R	R	R
−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
−	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+
+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+
+**	−	−	−	−	−	−	−	±	−	+
−	−*	−**	−	−	−	−	−	+	−	−
−	−	−	+	+	+	−	−	+	+	+
−	+	+	−	−	−	±	±	+	+	+
−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+
±	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−
−	−	±	−	−	−	+	+	−	−	−
10	114	240	16	90	27	61	35	10	29	26
+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−

Identificación

Las pruebas y estudios que se emplean son múltiples (tabla 47-5).

Estudios bioquímicos. Existe una prueba fundamental que permite la diferenciación de *M. tuberculosis* del resto de las micobacterias y que es la no producción de ácido nicotínico (prueba de la niacina) por estas últimas. Las pruebas que deben valorarse para la identificación de especies son: búsqueda de ácido nicotínico, catalasa antes y después de calentar a 70 °C, peroxidasa, reducción de nitratos, hidrólisis de Tween-80, transformación del citrato de hierro amoniacal, actividad amidásica, utilización de hidratos de carbono, resistencia al TCH (hidrazida del ácido tiofeno-2-carboxílico), arilsulfatasa, resistencia a INH, etc.

Estudios químicos. Están basados en el estudio lipídico por espectroscopia infrarroja (estudio de micósidos), cromatografía gas-líquido y cromatografía en papel. Igualmente pueden incluirse aquí los estudios de homología del ADN. Los estudios de las micobactinas aún no están estandarizados.

Estudios biológicos. Son los de fagotipia, serotipia y micobacteriocinotipia, que, aunque ya se han realizado en algunas especies, no están aún desarrollados.

Indirecto

Las pruebas serológicas no están suficientemente desarrolladas ni estandarizadas. Citemos como de alguna utilidad la aglutinación, precipitación, hemaglutinación e inmunofluorescencia.

Sensitinas

Este método inmunológico, cuyo valor es fundamentalmente epidemiológico, está basado en que las personas infectadas con una micobacteria atípica dan una induración cutánea similar a la que se observa cuando se administra PPD-S en los estudios epidemiológicos de tuberculosis. Los individuos en los que se observen formaciones ácido-alcohol-resistentes y que presenten una reacción negativa a 5 UT de PPD-S, pero positiva a 250 UT de PPD-S, suelen estar infectados por alguna micobacteria atípica que puede ser identificada, la mayor parte de las veces, con 5 UT de la sensitina de la micobacteria correspondiente. No obstante, en algunos individuos, 5 UT de PPD-S dan una reacción cruzada superior a 8 ó 10 mm.

En general, se acepta que la reacción cutánea es siempre mayor a la sensitina homóloga que a cualquiera otra PPD, incluida la PPD-S.

Conviene puntualizar que, dada la enorme difusión de estas micobacterias en el entorno natural que rodea a los animales y al hombre, donde pueden encontrarse en ausencia de toda manifestación patológica, invita a ser prudentes antes de afirmarse en un diagnóstico de micobacteriosis, prudencia que está justificada por la desproporción existente entre el gran número de pacientes de los que se aíslan micobacterias atípicas y el pequeño número de enfermos verdaderamente afectos de micobacteriosis evolutivas.

Por esto, el diagnóstico de micobacteriosis sólo puede llevarse a cabo por el laboratorio y constatarse por la gran correlación que debe existir entre hechos clínicos, radiológicos y bacteriológicos.

Los criterios que habitualmente se siguen para confirmar una micobacteriosis son:

1. Aislamiento reiterado de la micobacteria «atípica», a partir de los productos patológicos que se estudian en un mismo sujeto, en ausencia de *M. tuberculosis* y *M. bovis*.
2. Aislamiento de aquellas mismas especies de las piezas de exéresis, si hubiere lugar. Se precisaría, además, la existencia de un estado de enfermedad activa y lesiones anatomopatológicas sugerentes de tuberculosis.
3. Alergia cutánea más marcada a la PPD específica que a la PPD-S.

Estos criterios no deben ser rígidos, pues existen formas anatomoclínicas que dificultan la obtención de muestras para la investigación.

Además, si se aísla, junto con alguna especie de micobacteria atípica, *M. tuberculosis* o *M. bovis*, no debería excluirse la posible causalidad en el cuadro patógeno de las micobacterias atípicas, que se trataría en este caso de una «micobacteriosis mixta».

Se han fijado también unos criterios más concisos y objetivos, dividiéndolos en dos tipos: mayores y menores.

1. Criterios mayores:

a) Aislamiento repetido, por lo menos más de 4 veces, con cultivos de más de 100 colonias y sintomatología propia.

b) Existencia de lesiones que contengan micobacterias «atípicas» y cuyos cambios histopatológicos se atribuyan a dicha micobacteria.

2. Criterios menores:

a) Eliminación de bacilos en gran cantidad, más de 100 colonias en los cultivos o en repetidas ocasiones (más de 4 veces).

b) Presencia de bacilos en órganos o tejidos, de los que se desconocen las características histopatológicas.

c) Alergia cutánea a la PPD específica más acentuada que a la PPD-S o un cambio de respuesta cutánea favorable a la PPD específica en el curso de la enfermedad.

Se establecerá un diagnóstico de micobacteriosis cuando se cumpla la objetivación de un criterio mayor o de tres criterios menores.

TRATAMIENTO

Debe basarse en los resultados del antibiograma, pues, en general, las micobacterias atípicas son más resistentes que *M. tuberculosis* a los fármacos antituberculosos. Además, existen grandes variaciones de unas especies a otras.

Enfermedades pulmonares

La respuesta al tratamiento depende fundamentalmente de la sensibilidad del agente causal.

M. kansasii es habitualmente sensible a isoniazida (INH), rifampicina (RMP), estreptomicina (SM), ácido para-aminosalicílico (PAS) y etambutol (EMB), aunque las CMI suelen ser mayores que para *M. tuberculosis*. El régimen más usado es la asociación INH (300 mg/día) y RMP (600 mg/día) durante un período de 18-24 meses. Algunos autores recomiendan iniciar el tratamiento con la asociación de INH + SM + EMB y reservar la RMP para uso posterior, si fuera necesario.

Las enfermedades producidas por *M. avium-intracellulare* responden peor al tratamiento. El régimen terapéutico debe estar basado en una cuidadosa selección de los datos del antibiograma. Se llevará a cabo una administración conjunta de varios fármacos, y se aconseja que sean cuatro.

El resto de las micobacterias productoras de cuadros pulmonares deben combatirse de acuerdo con los datos del antibiograma. En general, los regímenes más empleados son: para *M. szulgai*, RMP, EMB y ETA (etionamida) o SM, y para *M. xenopi*, INH, RMP y SM.

Las enfermedades pulmonares debidas a *M. scrofulaceum* y *M. simiae* no suelen responder al tratamiento quimioterápico, y la filosofía del tratamiento es similar a la apuntada para el grupo *M. avium-intracellulare*.

El tratamiento de las infecciones pulmonares producidas por *M. fortuitum* y *M. chelonae* consistirá en un aminoglicósido (amikacina) junto a ETA y SM.

El papel de la cirugía es discutido. Lo más aceptado es la práctica de resecciones pulmonares en procesos localizados, cuando no responden a un tratamiento múltiple correcto.

Linfadenitis

El tratamiento de elección es la extirpación de los ganglios afectados. Puede ir acompañado o no de tratamiento quimioterápico.

Piel y tejidos blandos

Si es posible, se realizará un tratamiento quirúrgico.

M. marinum suele ser resistente a los fármacos antituberculosos, excepto RMP y CS (cicloserina). Ambos fármacos asociados se han mostrado eficaces en el tratamiento de granulomas cutáneos sin necesidad de extirpación quirúrgica.

Para *M. ulcerans*, el régimen más efectivo suele ser la asociación SM y RMP. También pueden tener alguna efectividad la DDS y la clofazimina.

El tratamiento de las infecciones óseas es fundamentalmente quirúrgico; el de las urinarias estará basado en el antibiograma y el de los restantes cuadros también, aunque de estos últimos se dispone de pocos datos, que permitan aconsejar un régimen terapéutico.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Las micobacterias patógenas están adaptadas a determinadas especies animales que serían receptores específicos: *M. tuberculosis* para el hombre, *M. bovis* para los bóvidos, *M. avium* para las aves. Cuando las micobacterias son aisladas de animales receptores no específicos, determinan en ellos una enfermedad que no es transmisible a otros individuos de la misma especie. Sería el eslabón final de una serie de infecciones sin que se produzcan consecuencias epidemiológicas de difusión.

El estudio de la sensibilidad de las pruebas cutáneas a las PPD de las micobacterias atípicas permite valorar el estado alérgico de la población y conocer así las especies que predominan en un área geográfica determinada.

Reservorios y fuente de infección

Las micobacterias atípicas son gérmenes muy ubicuos, que pueden encontrarse en la mayoría de los medios naturales: tierra, agua (reservorio hidrotelúrico), animales y hombre.

Son múltiples los animales domésticos y peridomésticos, en los que se han aislado micobacterias, sin que se haya dilucidado si el animal está enfermo o simplemente es porta-

dor. La contaminación humana puede tener lugar por contacto directo o indirecto a través de las deyecciones y alimentos de origen animal.

Parece ser que el hombre puede actuar de reservorio ya sea como portador o como enfermo.

También se han aislado micobacterias atípicas a partir de piensos animales, serrín, estiércol, etc.

Mecanismo de transmisión

A pesar de la oscuridad que rodea este tema, deben señalarse algunos hechos.

La transmisión por contagio interhumano parece excepcional debido, entre otras, a las siguientes circunstancias: incapacidad de estas bacterias para soportar la suspensión en aerosol, escasa supervivencia en suspensión aérea y dificultad de penetración en el árbol respiratorio.

Las puertas de entrada son variadas y ya se han comentado (aeropulmonar, digestiva, cutánea, tonsilar, ocular, etc.).

Factores epidemiológicos

Existen factores climáticos (*M. ulcerans* es más frecuente en climas tropicales), ambientales (rurales), profesionales (mineros, cuidadores de piscinas), higiénicos y otros relacionados con la situación inmunológica y de las defensas del organismo.

Las lagunas existentes en la epidemiología de las micobacterias explican que las medidas preventivas carezcan de la eficacia que tienen en otras afecciones transmisibles. No obstante, pueden aplicarse medidas de profilaxis general que palian en cierto modo la diseminación de estos procesos.

Las micobacteriosis de puerta de entrada aérea, bien a micobacterias del grupo aviar o a *M. kansasii*, son de naturaleza profesional; por esto, los trabajadores de granjas avícolas, en el primer caso, y los mineros, en el segundo, son las profesiones más expuestas.

En el caso de las afecciones por *M. marinum*, el tratamiento y depuración de las aguas de piscina, acuarios, etc., evitan la permanencia de estas micobacterias. De igual manera, las micobacteriosis por inoculación, que provocan abscesos, pueden evitarse mediante una esterilización eficaz del material de inyección.

Hasta el momento, no está perfectamente demostrada una comunidad antigénica entre *M. tuberculosis* y el resto de las micobacterias, pero es probable que la vacuna con BCG, al igual que ocurre en la lepra, provoque un viraje de la reacción tuberculínica. que puede proteger en alguna forma del resto de las micobacterias, lo que ya se ha podido comprobar en aquellas infecciones producidas por *M. ulcerans*.

Se ha sugerido elaborar una vacuna polivalente con micobacterias atípicas, pero, puesto que la enfermedad aparece en pocas ocasiones y la transmisión interhumana es excepcional, no se ha empleado de una manera sistemática en la población.

BIBLIOGRAFIA

American Thoracic Society: Guidelines for short-course tuberculosis chemotherapy. Am. Rev. Respir. Dis., 121, 611-614, 1980.

Berlin, O. G. W., y Martin, W. J.: Leprosy or Hansen's disease. Clin. Microbiol. Newsletter, 3, 135-138, 1981.

Bryceson, A., y Pfaltzgraff, R. E.: Leprosy. Churchill Livingstone; Edinburgh, 1979.

Daniel, T. M.: The immunology of tuberculosis. Clin. Chest. Med., 1, 189-201, 1980.

Good, R. C.: Nontuberculous mycobacteria. Clin. Microbiol, Newsletter, 1(20), 1-4, 1979.

Green, G. M. (dir.): Koch Centennial Supplement. Am. Rev. Respir. Dis., 125, 1-132, 1982.

Harris, H. W., y McClement, J. H.: Pulmonary tuberculosis. En Hoeprich. P. D. (dir.): Infectious Diseases, 3.ª ed., 378-404. Harper and Row, Hagerstown, 1985.

Jawetz, E.; Melnick, J. L., y Adelberg, E. A.: Mycobacteria. En Manual de microbiología médica, 9.ª ed., 211-218. El Manual Moderno, México, 1981.

Lagrange, P. H.; Hurtrel, B., y Stach, J. L.: Vaccines against mycobacteria and other intracellular multipling bacteria. Ann. Inst. Pasteur/Immunol., 136D, 151-162, 1980.

Raetledge, C.: The physiology of the mycobacteria. Adv. Microbiol. Physiol., 13, 115-244, 1976.

Raetledge, C., y Stanford, J.: The Biology of the Mycobacteria. Academic Press, London, 1982.

Sansonetti, P., y Lagrage, P. H.: The Immunology of leprosy: Speculations on the Leprosy spectrum. Rev. Infect. Dis., 3, 422-469, 1981.

Styblo, K.: Recent advances in epidemiological research in tuberculosis. Adv. Tuberc. Res., 20, 1-63, 1980.

Wayne, L. G., y Kubica, G. P.: *Mycobacteriaceae*. En Sneath, P. H. A.; Mair, N. S.; Sharpe, M. E., y Holt, J. G. (dirs.): Bergey's Manual of Systematic bacteriology, vol. 2, 1436-1457. Williams and Wilkins, Baltimore, 1986.

WHO: Vaccination against tuberculosis. Technical Report Series, 652, 1979.

Willet, H. P.: *Mycobacterium*. En Joklik, W. K.; Willet, H. P., y Amos, D. B. (dirs.): Zinsser Microbiology, 18.ª ed., 548-581. Appleton-Century-Crofts, New York, 1984.

Wolinsky, E.: Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. Am. Rev. Respir. Dis., 119, 107-159, 1979.

Youmans, G. P.: Tuberculosis, W. B. Saunders, Philadelphia, 1979.

Capítulo 48

Espiroquetas: Treponema y Borrelia

Antonio Rodríguez-Torres

Las espiroquetas son bacterias de morfología ondulada o en espiral y dimensiones variables, que se caracterizan por la presencia de una pared celular fina y flexible, y de unas fibrillas o flagelos axiales internos, que se consideran relacionados con su movilidad.

Su estructura, vista al microscopio electrónico, está constituida por un cilindro protoplasmático de forma helicoidal, al que se fijan uno o varios flagelos, todo ello recubierto por una membrana externa.

El cilindro protoplasmático contiene el protoplasma y núcleo, y está limitado por la membrana citoplásmica y la pared celular, constituida por una fina capa de peptidoglicano, responsable de su flexibilidad y forma en espiral.

Los flagelos presentan la misma estructura que en las bacterias. Se insertan por medio de discos de fijación en la zona subterminal de ambas extremidades y después de una acodadura se dirigen hacia la otra extremidad y pueden entrecruzarse o no en el centro. Por su especial situación entre la capa de peptidoglicano y la membrana externa han recibido la denominación de flagelos internos axiales o periplásmicos.

La membrana externa es una cubierta elástica y frágil, esencial para la integridad de la espiroqueta. Es de naturaleza lipoproteica y contiene lipopolisacáridos, que constituyen la mayoría de los antígenos específicos de la bacteria. En los tejidos se observa, además, una capa amorfa más externa, que se colorea por rojo de rutenio y que probablemente se identifica con la capa mucosa o glicocálix.

Son microorganismos muy móviles, que presentan movimientos de rotación a lo largo de su eje longitudinal, de flexión y de progresión en forma de tirabuzón. Se diferencian por sus caracteres morfológicos y fisiológicos; los de mayor diámetro pueden observarse con el microscopio ordinario en preparaciones teñidas por el método de Giemsa o de Gram, y se comportan como gramnegativos. Los más finos sólo se observan en fresco con el microscopio de fondo oscuro y contraste de fases o por métodos de coloración que aumenten su diámetro, como las técnicas de impregnación argéntica.

Las necesidades nutritivas son diversas, y algunas especies pueden cultivarse en medios artificiales. Pueden ser aerobias o anaerobias, y su metabolismo, de tipo oxidativo o fermentativo.

Se encuentran muy difundidas en la naturaleza, ya como formas de vida libre en las aguas o como simbiontes en el hombre y los animales. En este caso se comportan en general como comensales, pero algunas especies son patógenas.

En el orden *Spirochaetales* se encuentra la familia *Spirochaetaceae*, que, atendiendo a sus características morfológicas, fisiológicas y de *hábitat*, se divide en cinco géneros, *Spirochaeta*, *Cristispira*, *Treponema*, *Leptospira* y *Borrelia*. Las especies patógenas se encuentran en los géneros *Treponema*, *Leptospira* y *Borrelia*, cuyas características diferenciales se exponen en la tabla 48-1.

Spirochaeta. Espiroquetas de gran tamaño (5-500 × 0,2-0,7 μm) con dos flagelos axiales. Pueden ser aerobias o anaerobias facultativas. Son formas de vida libre que se encuentran en las aguas que contienen SH_2, especialmente en las aguas contaminadas y residuales. Especie tipo: *S. plicatilis*.

Cristispira. Espiroquetas de tamaño algo menor (30-150 × 0,5-5 μm), que presentan cuerpos de inclusión ovoides y más de 100 flagelos, que se agrupan en mechones formando una cresta alrededor del cilindro protoplasmático, que es visible al microscopio. Existen formas de vida libre en las aguas, pero en su mayoría se encuentran como comensales en diversas especies de moluscos. Especie tipo: *C. pectinis*.

Treponema. Espiroquetas pequeñas y finas (5-15 × 0,2 μm), formadas por espiras regulares y apretadas (5-20), con las extremidades afiladas y de 1 a 5 flagelos (generalmente 3). Por su finura, sólo se observan en fresco por microscopia de campo oscuro y en contraste de fases. No se tiñen por los colorantes de anilina, pero sí por Giemsa y métodos de impregnación argéntica.

Son anaerobias y presentan un metabolismo fermentativo. Las especies patógenas no se han podido cultivar en medios artificiales. La mayoría de las especies se comportan como comensales en el hombre y los animales. Especie tipo: *T. pallidum*, agente causal de la sífilis.

Borrelia. Espiroquetas de mayor diámetro (5-30 × 0,5 μm), de espiras escasas, amplias e irregulares (3-10), con las extremidades afiladas y 15-20 flagelos que rodean el cilindro protoplasmático. Se observan al microscopio ordinario, se tiñen por el método de Giemsa e incluso por el de Gram, y se comportan como gramnegativas.

Se cultivan con dificultad en medios artificiales, son anaerobias y presentan un metabolismo fermentativo. Se encuentran como parásitos en diversas especies animales y artrópodos, y pueden transmitir la infección al hombre, al que producen la fiebre recurrente. Especie tipo: *B. anserina*.

Tabla 48-1. Caracteres diferenciales de las especies de espiroquetas patógenas

	Treponema	*Borrelia*	*Leptospira*
Longitud (μm)	5-15	5-30	5-20
Diámetro (μm)	0,2	0,5	0,1
Espiras	Regulares y apretadas (5-20)	Irregulares y amplias (3-10)	Numerosas, regulares y apretadas (30-50)
Extremidades	Afiladas	Afiladas	Incurvadas
Fibrillas	1-5 (3)	15-20	2
Observación en fresco	Campo oscuro y contraste de fases	Microscopio ordinario	Campo oscuro y contraste de fases
Tinciones	Impregnación argéntica	Giemsa o Gram	Impregnación argéntica
Cultivo *in vitro*	No	Sí	Sí
Condiciones respiratorias	Anaerobias	Anaerobias	Aerobias
Metabolismo	Fermentativo	Fermentativo	Oxidativo
Especie patógena	*T. pallidum*	*B. recurrentis*	*L. interrogans*
Reservorio	Hombre	Animales y artrópodos	Animales
Enfermedad fundamental	Sífilis	Fiebres recurrentes	Enfermedad de Weil

Leptospira. Espiroquetas muy finas (5-20 × 0,1 μm), formadas por numerosas espiras muy apretadas (30-50) y extremidades en forma de gancho. Presentan 2 flagelos axiales que no se entrecruzan. En fresco sólo se observan en campo oscuro o en contraste de fases y en preparaciones coloreadas por el método de Giemsa o de impregnación argéntica. Se diferencian de las anteriores en que se cultivan en medios artificiales, son aerobias y presentan un metabolismo de tipo oxidativo. Por estas características y otras se ha propuesto dentro del orden *Spirochaetales* la creación de la familia *Leptospiraceae*.

Se encuentran formas de vida libre en las aguas y formas parasitarias que afectan a numerosas especies animales, las cuales a su vez pueden transmitir la infección al hombre. Especie tipo: *L. interrogans*, agente causal de la leptospirosis.

Su cuadro más grave y característico es la leptospirosis icterohemorrágica o enfermedad de Weil.

Treponema: Treponema pallidum

CONCEPTO

El género *Treponema* está constituido por espiroquetas pequeñas y finas, de espiras regulares y apretadas y con los extremos afilados. Su aparato locomotor interno está constituido generalmente por 3 fibrillas.

En el género se incluyen especies patógenas para el hombre y los animales, y especies comensales de las mucosas de los conductos oral, digestivo y genital. Tres especies ocasionan enfermedades en el hombre, conocidas con el término genérico de treponematosis, de enorme importancia sanitaria y social: *T. pallidum*, agente causal de la sífilis, enfermedad de transmisión sexual (expresión que se prefiere hoy al clásico adjetivo de venérea), y también responsable de la sífilis endémica, de transmisión no sexual; *T. pertenue*, agente del pian, y *T. carateum*, responsable de la pinta. Estas tres especies son indistinguibles desde el punto de vista morfológico y antigénico, y su individualización se debe a las características epidemiológicas. clínicas y de distribución geográfica de las infecciones que producen (tabla 48-2). En el reino animal, la especie *T. cuniculi* es la responsable de la treponematosis del conejo. Las cuatro especies patógenas no se han podido cultivar, a pesar del gran número de investigaciones realizadas a tal fin. Sin embargo, *T. pallidum* puede multiplicarse en los tejidos de animales de experimentación, como el testículo de conejo.

Los treponemas comensales son componentes muy frecuentes de la flora normal de las mucosas de muy diversos animales. En su mayoría son cultivables. En el hombre se han descrito varias especies que son sobre todo frecuentes en la cavidad oral y, en menor proporción, en el tracto genital; las más importantes son: *T. vincentii*, que puede mani-

Tabla 48-2. Caracteres de las infecciones por las tres especies de «Treponema» patógenas para el hombre

Especie	Nombre de la enfermedad (otros nombres)	Distribución	Transmisión	Edades afectadas	Tejidos y órganos afectados
T. pallidum	Sífilis (lúes)	Mundial	Contacto sexual	Adultos	Todos
	Sífilis endémica (bejel, dichuchwa, njovera)	Zonas desérticas de Oriente Medio, Africa Central y del Sur	Contacto no sexual	Niños y adultos	Piel, mucosas, huesos
T. pertenue	Pian (frambuesia, buba)	Africa tropical, India, Sudeste asiático	Contacto no sexual, artrópodos	Niños	Piel, huesos, tejidos blandos
T. carateum	Pinta (carate, cute)	América Central y del Sur	Contacto no sexual, artrópodos	Niños	Piel

festar acción patógena asociado a bacilos fusiformes, en la angina de Vincent; *T. phagedenis*, una de cuyas variedades de fácil cultivo (treponema de Reiter) tiene utilidad en el estudio serológico de la sífilis, y *T. refringens*.

T. pallidum es la especie tipo del género.

MORFOLOGIA, ESTRUCTURA Y PROPIEDADES

Los treponemas son pequeños y finos (5-15 × 0,2 μm) y presenta vueltas de espira regulares y apretadas en número variable, en general no superior a 12. Sus extremidades son característicamente afiladas.

Por su finura, los treponemas no se visualizan en las preparaciones en fresco con el microscopio óptico con luz transmitida, pero sí en microscopia de campo oscuro y de contraste de fases. En estas condiciones se aprecia su intensa movilidad, de rotación sobre su eje, flexión y traslación.

En las preparaciones fijadas, *T. pallidum* no se tiñe por los colorantes de anilina o metacromáticos, que sí tiñen algunos treponemas comensales (*T. vincentii*). Mediante las técnicas de impregnación argéntica, como el método de Fontana, puede verse *T. pallidum* en las extensiones de los productos patológicos; el depósito de sales de plata aumenta el diámetro del microorganismo y permite su visualización, pero deforma notablemente su morfología.

Por microscopia electrónica se observa que los treponemas presentan la estructura característica de la familia *Spirochaetaceae*. De dentro a fuera presentan:

1. Un cilindro protoplasmático, de morfología helicoidal, limitado por una membrana citoplásmica, asociada a una delgada pared celular de peptidoglicano. Por debajo de la membrana citoplásmica se sitúan de 6 a 8 túbulos citoplásmicos.
2. El denominado órgano locomotor, compuesto por más de dos fibrillas, que se insertan en cada extremidad y se enrollan en el cilindro protoplasmático, en un paso de hélice inverso al de éste. Los treponemas patógenos presentan tres fibrillas y en otras especies pueden ser más numerosas.
3. Una membrana flexible de envoltura, de estructura trilaminar, provista en su superficie externa de una fina cápsula o capa mucosa compuesta por mucopolisacáridos.

La multiplicación de los treponemas ocurre por fisión binaria. Pueden cultivarse algunas especies comensales y se comportan como anaerobios estrictos. Las especies patógenas son incultivables. Los datos disponibles sobre *T. pallidum* se han obtenido del estudio de su multiplicación en el curso de la infección experimental del conejo. El tiempo de generación es muy lento (30 horas), y, en medios complejos con agentes reductores, el microorganismo puede conservar su movilidad durante 3 a 5 días y su viabilidad hasta 18 días. Datos recientes sugieren que *T. pallidum* no es anaerobio estricto, sino microaerófilo.

Algunas cepas de *T. pallidum* han podido inocularse con éxito a diversos animales de experimentación, como el chimpancé y el conejo. La cepa Nichols, aislada en 1912, se mantiene desde entonces por pases sucesivos cada 15 días en testículo de conejo. El animal desarrolla una orquitis extraordinariamente rica en treponemas, que siguen manteniendo inalterado su poder patógeno para el hombre. Esta cepa se utiliza ampliamente en las pruebas serológicas específicas de la sífilis (inmovilización, inmunofluorescencia, hemaglutinación pasiva).

Los treponemas resisten muy poco fuera del organismo humano y mueren rápidamente por desecación, lo que explica que su transmisión sea esencialmente por contacto. En el medio complejo definido por Nelson, que contiene albúmina, vitaminas, aminoácidos, cofactores y sales, y en atmósfera con un 95 % de N y un 5 % de CO_2 se mantiene la movilidad y viabilidad algún tiempo, como ya se ha indicado. Por congelación en nitrógeno líquido se puede conservar la vitalidad de los treponemas varios meses.

CONSTITUCION ANTIGENICA

La constitución antigénica de los treponemas es extraordinariamente compleja. Su conocimiento actual se ha alcanzado a partir del estudio de los anticuerpos detectables en el curso de la sífilis y del análisis antigénico, tanto de treponemas comensales en cultivo, como de *T. pallidum* multiplicados en el animal de experimentación. La serología de la sífilis, idéntica para las otras treponematosis, utiliza diversos métodos que ponen de manifiesto antígenos distintos presentes en el microorganismo causal.

De forma general puede afirmarse que la especificidad de los antígenos treponémicos decrece desde el exterior al interior del cuerpo bacteriano; los antígenos más específicos, de naturaleza polisacárida, se localizan en la superficie de la membrana de envoltura, y los específicos de grupo y heterogenéticos, de naturaleza proteica o lipídica, se sitúan en las estructuras más internas.

Se conocen cuatro grupos de antígenos en los treponemas:

Cardiolipina o hapteno lipídico de Wasserman

En el curso de la infección sifilítica aparecen anticuerpos que reaccionan en aglutinación y fijación del complemento con un hapteno lipídico, denominado cardiolipina. Se trata de un fosfatidil-glicerol presente, sin duda, en los treponemas, pero también en otras bacterias, plantas y tejidos animales, sobre todo músculo cardiaco. Recientemente se ha demostrado que la cardiolipina en los tejidos se localiza en las membranas de las mitocondrias. Para explicar la aparición de anticuerpos frente a la cardiolipina en la sífilis, se han formulado dos teorías. La primera postula que es una respuesta a este antígeno heterogenético, presente en el treponema; se apoya fundamentalmente en que estos anticuerpos aparecen sólo de forma regular en las treponematosis, en las que este antígeno se presentaría en forma inmunógena. Otra hipótesis considera que estos anticuerpos aparecen en la sífilis como una respuesta a los propios tejidos; el antígeno se liberaría en forma inmunógena en las lesiones sifilíticas. Esta segunda teoría se apoya en que anticuerpos frente a la cardiolipina aparecen, aunque no de forma regular, en otros procesos (lepra, lupus eritematoso sistémico, etcétera).

Los anticuerpos frente al hapteno de Wasserman se han denominado clásicamente reaginas, término que hoy tiende a abandonarse, habida cuenta de que se trata de verdaderos anticuerpos ligados a IgM, IgG e IgA, y a fin de evitar confusiones con los anticuerpos IgE de la alergia atópica.

Antígeno proteico específico de grupo

Es común a todos los treponemas, comensales y patógenos, y se localiza en las fibrillas del aparato locomotor interno. Se puede demostrar en suspensiones lisadas de treponema de Reiter por fijación del complemento. La demostración de anticuerpos frente a este antígeno en los enfermos tiene actualmente un valor secundario.

Antígenos proteicos específicos de los treponemas patógenos

Parecen idénticos en las tres especies e intervienen en la respuesta de base celular, con fenómenos de hipersensibilidad retardada, que ocurre en el curso de la sífilis.

Antígenos polisacáridos específicos de los treponemas patógenos

También son idénticos en las tres especies e intervienen en las reacciones serológicas más específicas con *T. pallidum* (inmunofluorescencia, hemaglutinación pasiva).

EPIDEMIOLOGIA

En este apartado y los siguientes, nos referiremos exclusivamente a las infecciones por *T. pallidum*, para considerar al final las peculiaridades de otras treponematosis.

La sífilis tiene una distribución mundial y constituye la más importante de las enfermedades de transmisión sexual por sus consecuencias. La fuente de infección es exclusivamente humana. Aunque los primates pueden ser experimentalmente infectados, no se conoce la existencia de infecciones naturales por *T. pallidum* en el mundo animal. La sífilis se transmite únicamente durante los estadios primario y secundario, en los que las lesiones contienen abundantes treponemas.

La enfermedad se transmite casi exclusivamente por vía sexual a través del contacto directo entre mucosas (genital, anal, oral). La infección accidental, no sexual, es excepcional, y a ella está especialmente expuesto el personal sanitario en el curso de los reconocimientos médicos, exploraciones, etc. La transmisión por transfusión sanguínea puede ocurrir, pero es rara por la escasa supervivencia de *T. pallidum* en la sangre a la temperatura del frigorífico.

T. pallidum puede, por otra parte, atravesar la placenta y producir infecciones congénitas. Como es lógico, las edades más afectadas son las de mayor actividad sexual, en general los adultos jóvenes, y la sífilis es mucho más frecuente en los individuos y grupos que practican mayor promiscuidad sexual. El número de casos de sífilis descendió de forma espectacular, en prácticamente todos los países, a partir de la introducción del tratamiento con penicilina en los años 40. Desde la década de los 60, se asiste, con ligeras diferencias de unos países a otros, a un creciente aumento de la incidencia de los casos de sífilis precoz, si bien los casos de sífilis tardía han continuado afortunadamente en descenso. En esta evolución de las infecciones por *T. pallidum* han influido muchos y variados factores sociales, relacionados con la liberación de la actividad sexual. En la actualidad, los adolescentes, homosexuales y grupos sociales marginados están gravados por índices elevados de infección sifilítica.

ACCION PATOGENA

Patogenia

No se conocen con precisión los antígenos o estructuras de *T. pallidum* responsables de su acción patógena. La infecciosidad parece ligada a la capacidad de adhesión a las membranas celulares y a la activa multiplicación en el seno de los tejidos, sin que el microorganismo libere ninguna toxina, aunque sí probablemente exoenzimas.

Algunas experiencias sugieren que los treponemas se adhieren a los mucopolisacáridos superficiales de los tejidos del huésped. Por otra parte, los componentes mucopolisacáridos presentes en la superficie de la bacteria presentan un efecto antifagocitario, impiden la actuación de los anticuerpos y podrían tener una acción supresora sobre la respuesta inmunitaria. La multiplicación en la puerta de entrada es muy importante; en el chancro primario, la concentración de bacterias es muy elevada ($> 10^7$).

T. pallidum puede infectar prácticamente todos los tejidos del organismo, en un largo proceso que puede durar toda la vida del sujeto. Característicamente, la enfermedad cursa en períodos o estadios, bien diferenciados desde el punto de vista clínico (sífilis primaria, secundaria y terciaria), separados entre sí por períodos de latencia asintomáticos que pueden durar años, en los cuales sólo el estudio serológico permite el diagnóstico.

La infección ocurre por el contacto con las lesiones primarias o secundarias, ricas en treponemas, presentes en las mucosas. Tras un período de incubación que oscila entre 10 y 90 días, con un promedio de 21 días, se desarrolla el chancro primario. La duración del período de incubación está relacionada con la dosis infectante. A partir del chancro, los treponemas se diseminan por vía linfática y hematógena, por lo que la enfermedad es sistémica desde el principio. En los ganglios regionales, los treponemas se multiplican también activamente y ocasionan adenopatías satélites. En este período primario, los síntomas desaparecen espontáneamente en 2-6 semanas y sólo son locales. El estudio anatomopatológico de las lesiones demuestra numerosos treponemas y una infiltración linfocitaria y plasmocitaria que tiende a la fibrosis y cicatrización.

La sífilis secundaria aparece tras un período de latencia variable, de pocas semanas a 2 años. Se caracteriza por una intensa espiroquetemia, que ocasiona lesiones metastásicas en diversos órganos. Dichas lesiones en los territorios cutáneos mucosos son muy infectantes. La enfermedad en este estadio tiene una sintomatología claramente sistémica, con un síndrome general infeccioso, que remite en pocas semanas (2-6) como consecuencia de la intensa respuesta inmunitaria del huésped.

Durante un tiempo ampliamente variable, que oscila entre 3 y 30 años, la infección se mantiene de forma latente, sin síntomas aparentes; puede, sin embargo, diagnosticarse por la positividad de las pruebas serológicas. Está demostrado que, en este período de latencia, los treponemas se mantienen en escaso número y silentes en diversos órganos, sobre todo ganglios linfáticos y bazo.

La sífilis terciaria puede afectar prácticamente todos los órganos y, de forma especial, los huesos, aparato cardiovascular y sistema nervioso. La presencia de treponemas en los tejidos es muy escasa, por lo que este período no es contagiante. Anatomopatológicamente, las lesiones consisten en extensos granulomas con caseificación y necrosis, denominados gomas, constituidos por linfocitos, células epitelioides y células gigantes. Las manifestaciones de la sífilis terciaria revelan el predominio de una respuesta inmunitaria de base celular con fenómenos de hipersensibilidad retardada.

Clínica

Teniendo en cuenta que las consecuencias y requerimientos terapéuticos son muy distintos, se acostumbra distinguir entre sífilis *precoz*, que incluye los procesos de menos de 3 años de evolución (y, por consiguiente, los períodos primario y secundario), y sífilis *tardía* para los procesos de más de 3 años de evolución (terciarias).

Sífilis primaria

Las lesiones clínicas del período primario son el chancro y la adenopatía regional. El chancro sifilítico (o chancro duro, para distinguirlo de la lesión primaria producida por *Haemophilus ducreyi*) es una lesión generalmente única, ulcerada, con exudado seroso, indolora y de base indurada, que asienta habitualmente en la mucosa genital: labios, vagina y cérvix en la mujer, y pene en el hombre (fig. 48-1). Pueden existir chancros extragenitales en la cavidad oral, ano, dedos, mamas, etc. El chancro puede pasar inadvertido por su localización (p. ej., en el cérvix) o no presentarse por una terapéutica intempestiva e insuficiente. En ambos casos, la enfermedad seguirá su curso indiagnosticada. De la misma forma puede no sospecharse el diagnóstico en muchas localizaciones extragenitales.

La adenopatía suele ser inguinal, bilateral e indurada, y no presenta supuración, salvo sobreinfección bacteriana.

En esta etapa, el diagnóstico de laboratorio se basa sobre todo en la demostración de *T. pallidum* en los exudados del chancro o adenopatía. La serología comienza a hacerse positiva hacia los 10 ó 15 días del inicio de las lesiones primarias.

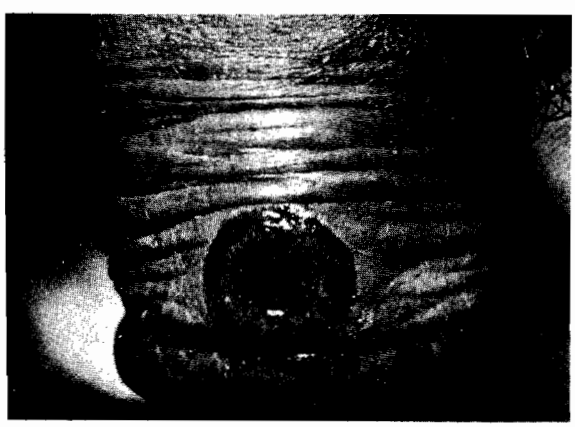


Fig. 48-1. Chancro sifilítico. (Por cortesía del Departamento de Dermatología, Prof. P. A. Quiñones, Facultad de Medicina de Valladolid.)

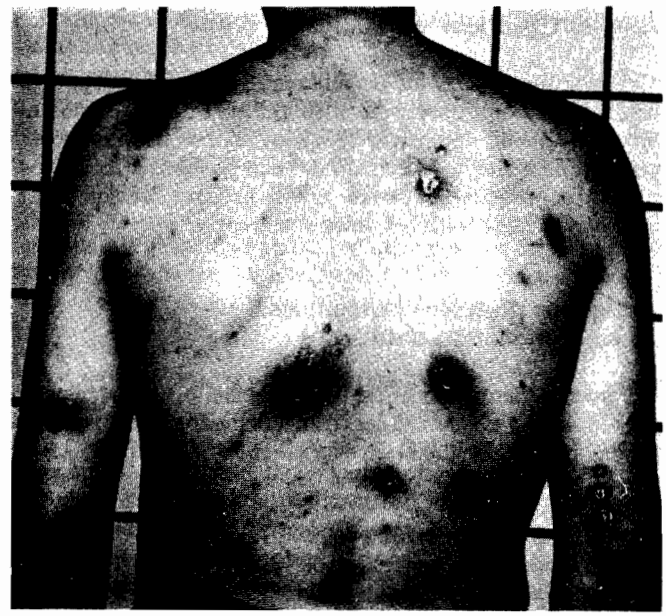


Fig. 48-2. Sífilide secundaria ulceronecrótica. (Por cortesía del Departamento de Dermatología, Prof. P. A. Quiñones, Facultad de Medicina de Valladolid.)

Sífilis secundaria

Las manifestaciones clínicas incluyen fiebre, postración, poliadenopatías y erupciones cutaneomucosas. Estas erupciones (sifílides) pueden adoptar formas maculares, papulosas, pustulosas u otras (fig. 48-2), y son ricas en treponemas. Lo mismo ocurre con los condilomas sifilíticos, que asientan preferentemente en mucosas y zonas cutaneomucosas. Las manifestaciones secundarias de las sífilis pueden repetirse. Existen, por otra parte, un buen número de casos en los que este período no está presente, y aparece años más tarde una sífilis terciaria.

En la sífilis secundaria, el diagnóstico puede establecerse por demostración de los treponemas en las muestras de las lesiones y por la serología, que es positiva en todos los casos, como lo es en la fase de latencia que sigue a este período.

Sífilis terciaria

Cuando se presenta, incluye graves afectaciones viscerales (como gomas cutáneos y óseos, aneurisma aórtico, tabes dorsal, parálisis general progresiva). A pesar del tratamiento, que ya no puede corregir las lesiones producidas, la serología se mantiene siempre positiva.

Sífilis congénita

El padecimiento de la sífilis por una mujer embarazada representa la posibilidad de una sífilis congénita del recién nacido por infección transplacentaria. Se ha considerado

tradicionalmente que la infección del feto sólo ocurrirá a partir del cuarto mes de gestación, pero está comprobado que puede suceder más precozmente (2.° mes). La infección sifilítica del feto se traduce en la mayoría de los casos en aborto.

Si se llega al término de la gestación, el recién nacido presenta una serie de estigmas sifilíticos.

Inmunidad

La infección humana por *T. pallidum* se describe en Europa de forma epidémica en el siglo XVI, con cuadros de extremada agudeza y frecuentemente mortales. Es muy discutido si la enfermedad existía previamente en el Viejo Mundo o fue importada de América tras su descubrimiento. Desde entonces, la sífilis ha modificado su presentación hacia formas de mayor cronicidad, raramente fatales; es evidente que ha seguido una evolución secular, en la que se ha producido una mejor adaptación parásito-huésped.

El hombre tiene actualmente cierto grado de inmunidad natural y desarrolla una inmunidad activa en el curso de la infección. Por ello, sólo un porcentaje menor del 50 % de las personas que tienen un contacto sifilítico desarrollan la enfermedad.

Las personas que han sufrido la sífilis presentan un elevado grado de resistencia a la reinfección, resistencia que no se presenta si la enfermedad fue tratada muy precozmente con antibióticos. Por otra parte, en ausencia de tratamiento, en un 75 % de los enfermos que han presentado una sífilis primaria, la enfermedad no prosigue, y sólo la mitad de los enfermos con sífilis secundaria desarrolla una sífilis terciaria.

Los mecanismos que intervienen en la inmunidad no se conocen con precisión. La infección por *T. pallidum* suscita una abundante respuesta humoral, pero muchos de los anticuerpos provocados (p. ej., anticardiolipina) no son protectores. Los sueros inmunes, sin embargo, tienen un limitado efecto protector en la infección experimental, y parece que en la curación clínica de los períodos primario y secundario interviene la respuesta humoral.

La respuesta celular está deprimida en los estadios más precoces de la infección, pero es evidente ya en la etapa final del período primario, al mismo tiempo que cicatriza el chancro. En el período terciario se ha instaurado una hipersensibilidad retardada, que condiciona claramente las manifestaciones clínicas. Se considera, en definitiva, que la resistencia adquirida a la infección por *T. pallidum* se debe fundamentalmente a la respuesta celular con la cooperación de los mecanismos humorales.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Aunque la clínica de la sífilis es a veces muy concluyente, el diagnóstico de laboratorio es indispensable antes de iniciar un tratamiento. Por otra parte, teniendo en cuenta la posibilidad de que las manifestaciones del período primario hayan pasado inadvertidas por diversas razones, el despistaje serológico de la sífilis es absolutamente recomendable en los exámenes en salud (reconocimientos laborales, exámenes ginecológicos o prenatales, etc.).

El diagnóstico de la infección treponémica puede establecerse durante el período primario y secundario, mediante demostración del agente causal en el material de las lesiones (exudados del chancro, adenopatías, sifílides, condilomas). El único procedimiento fiable es la observación directa en microscopia de campo oscuro, realizada por un trabajador de laboratorio experto. En el examen de material de determinadas localizaciones (sobre todo cavidad bucal) debe recordarse la posible presencia de treponemas comensales.

En todas las etapas de la enfermedad, el diagnóstico debe establecerse, o confirmarse, mediante la demostración de anticuerpos en el suero del enfermo (serología luética). La serología puede ser igualmente positiva en el LCR en la fase terciaria (neurosífilis).

Se han propuesto muy numerosas pruebas serológicas, cada una con infinidad de variantes, que la experiencia ha ido reduciendo. En la actualidad, las pruebas de interés se pueden agrupar en dos grandes categorías:

1. Pruebas con el antígeno cardiolipina. Se denominan frecuentemente pruebas con antígeno no treponémico, lo que no parece muy correcto.
2. Pruebas con antígenos específicos de treponema. También se llaman simplemente pruebas con antígenos treponémicos, en contraposición a la denominación antes citada.

En el serodiagnóstico de la sífilis, los conceptos de sensibilidad y especificidad de la reacción son, si cabe, más importantes que en otras serologías. La sensibilidad de una prueba se define como la frecuencia con que los enfermos realmente sifilíticos son detectados con ella; una sensibilidad del 100 % significa que no existe ningún falso negativo. La especificidad se define por la frecuencia con que la prueba resulta positiva en enfermos no sifilíticos; si dicha frecuencia es baja, la especificidad es alta, y a la inversa; una prueba que no diera ningún falso positivo sería totalmente específica. En la sífilis, ninguna prueba es absolutamente sensible y específica, de donde la necesidad de combinar diversas pruebas para un diagnóstico correcto.

Reacciones con el antígeno cardiolipina

Se utilizan en dos modalidades: microaglutinación en placa y fijación del complemento.

La cardiolipina es una sustancia bien definida (1-3, difosfatidil-glicerol), que, cuando se absorbe sobre partículas de colesterol en presencia de lecitina, presenta una intensa reactividad inmunológica. El antígeno usado tiene estos tres componentes, combinados en distintas proporciones según la modalidad de la reacción, y presenta la especificidad de la cardiolipina.

Las reacciones de microaglutinación en placa han sido perfectamente estandarizadas. La técnica más utilizada se denomina VDRL (de Venereal Diseases Research Laboratory), si bien la escuela francesa prefiere una técnica similar de Kline. Al mezclar sobre una placa de cristal una gota de suero del paciente con el antígeno, la reacción positiva se visualiza en pocos minutos por una aglutinación de las partículas de colesterol sensibilizadas por la cardiolipina; es, por consiguiente, una modalidad de aglutinación pasiva. La reacción permite la titulación de los anticuerpos antihapteno de Wasserman, que a su vez reflejan bien la actividad de la infección sifilítica en los distintos estadios de la enfer-

medad. Por esto, la reacción de VDRL es una de las más útiles, no sólo en el diagnóstico de los enfermos sospechosos y en los despistajes de sífilis ignoradas en grupos de población, sino también en el seguimiento de la enfermedad en el curso del tratamiento. Para los estudios en masa se han introducido variantes de aplicación rápida (RPR, reagina rápida en plasma) o automatizadas (ART, prueba reagínica automatizada).

Todavía se siguen utilizando en muchos laboratorios pruebas del mismo tipo en tubo, denominadas de «floculación» (prueba de Kahn), que son netamente inferiores a las anteriores.

Los anticuerpos anticardiolipina pueden estudiarse también en reacción de fijación del complemento. La reacción clásica de Wasserman, que utilizaba antígenos mal definidos, se ha sustituido por pruebas basadas en la técnica de Kolmer con cardiolipina.

Las reacciones con cardiolipina, sobre todo VDRL, tienen una buena sensibilidad, pero su especificidad está limitada por el carácter heterogenético de este antígeno. En el curso de diversos procesos patológicos (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, lepra, paludismo, tuberculosis, tumores malignos) y aun en la población normal, pueden presentarse resultados falsos positivos. La repetición de la reacción y sobre todo el empleo de pruebas más específicas resuelven el problema.

Reacciones con antígenos específicos de Treponema

Utilizan como antígenos suspensiones de treponemas intactos o lisados.

Mediante una reacción de fijación del complemento con treponemas de Reiter lisados pueden demostrarse anticuerpos frente al antígeno proteico de grupo. La prueba no es muy específica por la amplia distribución de los treponemas comensales.

En este grupo, las pruebas de gran utilidad son aquellas que utilizan *T. pallidum* cepa Nichols, obtenido de la multiplicación en testículo de conejo. Las reacciones de mayor interés son tres:

Reacción de inmunofluorescencia indirecta (FTA, FTA-ABS)

Se fija una suspensión de *T. pallidum* sobre un portaobjetos, y se deposita encima el suero del enfermo al 1/200 o al 1/5, previa absorción con un lisado de treponema de Reiter (FTA-ABS). La fijación de los anticuerpos a la superficie de *T. pallidum* se revela por adición de antiglobulina marcada por un fluorocromo. La lectura se realiza en microscopio de fluorescencia. Es la reacción más sensible.

Reacción de inmovilización (TPI o prueba de Nelson)

Es una reacción de ejecución muy delicada y costosa, que está siendo prácticamente sustituida por FTA-ABS. Sin embargo, es la más específica, por lo que se ha considerado la prueba de referencia, árbitro en los casos dudosos.

Consiste en enfrentar una suspensión de *T. pallidum*, mantenidos en supervivencia y móviles en un medio complejo, con el suero del paciente en presencia de complemento. La reacción, leída en microscopio de campo oscuro, se considera positiva cuando se produce la inmovilización de más del 50 % de los treponemas presentes.

Reacción de hemaglutinación pasiva (HAP)

Se ha introducido recientemente. Se sensibilizan hematíes tanados y formolizados con un lisado de *T. pallidum*. La adición de un suero positivo provoca la aglutinación de los hematíes. Es una prueba que se considera muy sensible, pero menos específica que FTA-ABS. Teniendo en cuenta su simplicidad y bajo coste, su uso se está generalizando.

Evolución de los anticuerpos (fig. 48-3)

Los anticuerpos específicos, detectables por FTA o HAP, se detectan precozmente y pueden estar presentes al inicio del período primario. Los anticuerpos anticardiolipina aparecen algo más tarde, generalmente a los 10-15 días del chancro. La reacción de inmovilización es la más tardía;

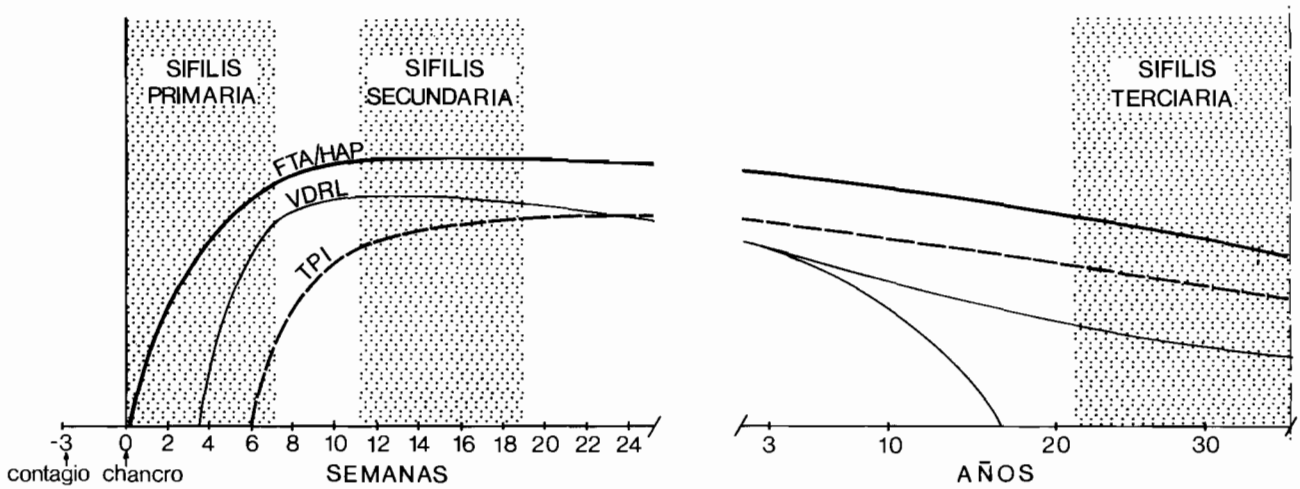


Fig. 48-3. Evolución de los anticuerpos en el curso de la sífilis. FTA, Inmunofluorescencia absorción; HAP, hemaglutinación pasiva; VDRL, microaglutinación VDRL; TPI, inmovilización.

se positiviza al final del período primario o comienzos del secundario.

En la evolución espontánea de la enfermedad, sin tratamiento, todas las reacciones se mantienen positivas durante los diferentes períodos clínicos y de latencia. En la fase terciaria, los anticuerpos antihapteno de Wasserman descienden, y en algunos casos estas reacciones son negativas, pero las reacciones específicas son siempre positivas.

El tratamiento precoz de la sífilis modifica la evolución de los anticuerpos. El tratamiento de una sífilis durante los primeros 6 meses supone en general la lenta desaparición de los diferentes anticuerpos. El tratamiento a partir de los 6 meses de evolución permite la desaparición de los anticuerpos anticardiolipina, pero las restantes reacciones suelen persistir positivas de forma indefinida. Finalmente, si el tratamiento se inicia en una sífilis tardía (más de 3 años), la presencia de los diversos anticuerpos no se modifica en absoluto.

TRATAMIENTO

T. pallidum es muy sensible a la penicilina, que sigue siendo el tratamiento de elección. A pesar de su amplio uso en la terapéutica de la sífilis, desde su introducción en la década de los 40, no se han descrito resistencias del microorganismo a la penicilina. En los casos de alergia a este antibiótico, pueden utilizarse alternativamente tetraciclinas o eritromicina, que resultan también eficaces.

El tratamiento de la sífilis en sus períodos primario y secundario se realiza con dosis elevadas de penicilina G, en forma de compuestos de acción retardada y, de éstos, especialmente penicilina benzatina, que mantiene concentraciones séricas suficientes durante 7 a 10 días después de cada inyección. La dosis total que ha de administrarse depende del período en que se encuentra la enfermedad. En todo caso, en la sífilis precoz es aconsejable comenzar el tratamiento con una dosis de 2, 4 millones de unidades (la llamada «dosis epidemiológica») de penicilina benzatina, que anula la contagiosidad y mantiene un nivel eficaz en sangre durante 2 semanas, lo que representa una probabilidad de curación de más del 90 % en el caso en que el paciente abandone el tratamiento sin recibir otras dosis adicionales. Tras el inicio del tratamiento, puede muy bien producirse una reacción inflamatoria de tipo Jarish-Herxheimer, que se atribuye a la destrucción masiva de los treponemas.

PROFILAXIS

La sífilis es la enfermedad de transmisión sexual de mayor trascendencia sanitaria y social. Su prevención debe realizarse en el marco general del control de estas enfermedades. Diversas circunstancias dificultan una profilaxis eficaz: escasa educación sobre sexualidad y enfermedades de transmisión sexual, levedad y alta infecciosidad de los períodos precoces, consideración social peyorativa de estos padecimientos, movilidad de los contactos, etc.

La profilaxis debe basarse en la educación sanitaria de la población sobre transmisión y diagnóstico de la enfermedad, investigación de todos los contactos de cada caso y establecimiento de programas de despistaje serológico en grupos de población.

OTRAS TREPONEMATOSIS

Las tres especies de treponemas patógenos para el hombre producen otras treponematosis que se distinguen claramente de la sífilis por no ser de transmisión sexual, no producir infección congénita del recién nacido y presentar una clínica habitualmente menos grave, con afectación cutaneomucosa, pero rara vez con alteración del aparato cardiovascular o del sistema nervioso. Por estas diferencias y la característica distribución geográfica y climática (tabla 48-1), los treponemas responsables se consideran especies distintas, aunque son idénticos a *T. pallidum* desde el punto de vista inmunológico.

Sífilis endémica de transmisión no sexual

Era un proceso muy frecuente en los Balcanes y Mediterráneo Oriental, y actualmente está acantonado en zonas desérticas de Oriente Medio, Península Arábiga, Rhodesia y Bechuanalandia. Se considera producida por la misma especie *T. pallidum* y afecta a niños y adultos. Se transmite sobre todo por objetos contaminados.

Pian

Es una infección que afecta predominantemente a los niños en regiones cálidas y húmedas (Africa tropical, Laos, Camboya, India). Se transmite por el prolongado contacto en condiciones promiscuas y también por artrópodos. Puede tener manifestaciones terciarias, gomosas, con destrucción ósea, cartilaginosa y de partes blandas. La especie responsable es *T. pertenue*.

Pinta o mal de Pinto

Es una treponematosis que ocurre en niños y adolescentes del Caribe. Su transmisión es semejante a la del pian y su clínica se limita a alteraciones cutáneas. Está producida por *T. carateum*.

Borrelia. Fiebres recurrentes

CONCEPTO

El género *Borrelia* incluye espiroquetas de mayor tamaño que los treponemas, sobre todo en su diámetro transversal, dotadas de fibrillas axiales en elevado número (superior a 15). Son patógenas para el hombre y muchos animales (sobre todo roedores y cánidos). Además son los agentes causales de fiebres recurrentes, endémicas o epidémicas, que se transmiten al hombre por artrópodos vectores. El concepto de especie va ligado al artrópodo vector, criterio de escasa validez taxonómica, que obliga a la consideración de un gran número de especies. La especie tipo es *B. anserina*.

MORFOLOGIA, ESTRUCTURA Y PROPIEDADES

Las borrelias tienen la morfología característica de las espiroquetas, con espiras escasas, amplias e irregulares (3 a 10). Su tamaño oscila entre 5 y 30 μm de longitud por 0,3 a 0,5 μm de anchura. Se pueden teñir por los colorantes de anilina y metacromáticos, se visualizan por la tinción de Giemsa e incluso de Gram y se comportan como gramnegativos.

La microscopia electrónica permite comprobar que su estructura corresponde al esquema general de la familia *Spirochaetaceae*, con un elevado número de fibrillas, que habitualmente oscila entre 15 y 20, pero puede llegar a 60.

Se adaptan con dificultad al cultivo en medios sintéticos complejos y se comportan como anaerobias estrictas o microaerófilas. Algunas cepas han podido cultivarse en embrión de pollo y multiplicarse y mantenerse en el laboratorio por pases sucesivos en el artrópodo vector.

CLASIFICACION

El único criterio utilizable hasta el momento para la clasificación es la especificidad de los artrópodos vectores. Por ello, cada borrelia aislada de una determinada garrapata constituye una especie, que generalmente se conoce con el nombre del artrópodo del que fue aislada.

Al no cultivarse fácilmente las borrelias, se carece de estudios metabólicos y sobre todo antigénicos comparativos entre las diferentes especies, lo que permitiría una clasificación sobre bases taxonómicas más firmes.

Desde el punto de vista práctico, las borrelias patógenas para el hombre se clasifican por razones epidemiológicas en dos grupos:

Borrelia transmitida por piojos

Es la especie *B. recurrentis*, transmitida por *Pediculus humanus* y responsable de la fiebre recurrente epidémica o cosmopolita.

Borrelias transmitidas por garrapatas, generalmente del género Ornithodoros

Producen las fiebres recurrentes endémicas, cuya localización geográfica depende de la presencia del artrópodo vector. Las más importantes son *B. duttonii*, transmitida por *O. moubata* en Africa; *B. hispanica*, transmitida por *O. erraticus* en la península Ibérica; *B. turicatae* y *B. hermsii*, transmitidas por las garrapatas del mismo nombre en Estados Unidos y Canadá; *B. venezuelensis* en América del Sur; *B. caucasica*, en la Unión Soviética, etc.

CONSTITUCION ANTIGENICA

La constitución antigénica de las borrelias se conoce de modo muy imperfecto. Existen relaciones antigénicas cruzadas con *Treponema*, y todas las cepas de *Borrelia* presentan antígenos proteicos comunes al género (grupo específico).

Las borrelias presentan en el curso de la infección, tanto experimental como natural, un fenómeno de variabilidad antigénica muy peculiar. Tras la infección se desarrollan anticuerpos, cuya presencia en la sangre y tejidos coincide con la remisión de la fiebre y la desaparición de las borrelias del torrente circulatorio. Al cabo de algunos días se produce una recurrencia del proceso, en la que la constitución antigénica de las borrelias presentes es distinta. Los anticuerpos producidos en cada recurrencia parecen ejercer una presión de selección de variantes antigénicas que serán las responsables de los siguientes episodios.

EPIDEMIOLOGIA

La fiebre recurrente epidémica es una enfermedad de distribución mundial, que se presenta sobre todo en circunstancias higiénicas extremas. Por esto, ha sido frecuente en guerras, miseria, catástrofes naturales, etc., calamidades que facilitan el hacinamiento y la presencia de los ectoparásitos. La última gran epidemia, ampliamente difundida, se produjo durante la Segunda Guerra Mundial. Recientemente sólo se han producido casos en Etiopía.

El reservorio es exclusivamente humano y el vector es siempre el piojo (*Pediculus humanus*). El insecto al picar a un sujeto enfermo ingiere las borrelias, que se multiplican en la hemolinfa y cavidad general, sin invadir nunca las glándulas salivales. Por esto, cuando el piojo pica a una persona sana, la picadura en sí no es infectante; la transmisión se produce tras el aplastamiento del piojo con el rascado, que permite la salida de hemolinfa contaminada y la penetración de las borrelias por las erosiones de la piel.

El piojo tiene una vida corta (1 mes) y no transmite las borrelias a su descendencia. Esto, unido al desconocimiento de la inexistencia de portadores sanos y reservorios animales, plantea el interrogante sobre cómo y dónde se mantiene *B. recurrentis* en la naturaleza durante los períodos interepidémicos.

Las fiebres recurrentes endémicas se presentan en diversas regiones del mundo y están transmitidas por garrapatas (*Ornithodoros, Argas*). Entre las poblaciones autóctonas rurales, la enfermedad tiene carácter endémico, y con frecuencia resultan afectados los viajeros que visitan estas regiones.

La garrapata, al picar al animal enfermo, ingiere las borrelias, que se multiplican en el hemocele e invaden prácti-

camente todos los tejidos del artrópodo. La transmisión se produce al depositar líquido coxal rico en borrelias en el momento de la picadura a un sujeto sano. Directamente o con ayuda del rascado, las borrelias penetran a través de los microtraumas de la piel. La garrapata persiste infectada durante toda su vida y transmite las borrelias a su descendencia por vía transovárica.

Existe un vasto reservorio de las borreliosis endémicas, constituido por las propias garrapatas y múltiples animales, entre los que tienen especial importancia los roedores salvajes y peridomésticos. También contribuyen a este reservorio otros mamíferos (cánidos, cerdos), aves de corral, etc.

ACCION PATOGENA

Patogenia

Las borrelias ocasionan una infección sistémica con multiplicación en diversos tejidos y abundante presencia en sangre. Aparte la variabilidad antigénica en el curso de las recurrencias, que parece un mecanismo de escape de la respuesta inmunitaria, no se conocen los mecanismos en los que asienta el poder patógeno del género *Borrelia*. En los casos fatales se objetiva una miocarditis.

Clínica

La fiebre recurrente epidémica tiene un período de incubación de 7 días tras la picadura del piojo. La enfermedad comienza bruscamente con fiebre, dolores musculares y cefalea, que duran unos 10 días. Tras un período apirético de 5 a 6 días, se produce en general una recurrencia. La enfermedad sin tratamiento tiene un pronóstico severo, con un 20 % de letalidad.

La fiebre recurrente endémica presenta una clínica similar, con varias recurrencias. En general es una enfermedad menos severa, sobre todo para las personas autóctonas.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de las fiebres recurrentes se establece por demostración de las borrelias en la sangre tomada en la fase febril. La muestra se examina al microscopio de contraste de fases o en preparaciones teñidas con colorante de Giemsa. Puede ser de utilidad el examen en gota gruesa.

La inoculación a los animales de laboratorio da resultados inconstantes. El animal de elección es el ratón recién nacido, que desarrolla borrelemia en 2 semanas.

TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

Las borrelias son muy sensibles a las tetraciclinas, que constituyen el antibiótico de elección. Con un tratamiento precoz curan prácticamente todos los casos.

La profilaxis se centra en el caso de la *B. recurrentis* en la interrupción de la transmisión por desinsectación. Las condiciones ambientales en que ocurre la infección vehiculada por garrapatas hacen difícil la destrucción del vector, por lo que la mejor prevención consiste en evitar el contacto con estos ectoparásitos.

BORRELIA BURGDORFERI Y ENFERMEDAD DE LYME

La enfermedad de Lyme, inicialmente denominada artritis de Lyme, es un proceso patológico sistémico, cuya presentación se observó a finales de los años 60 en Lyme, Connecticut, y que se individualizó como entidad nosológica en 1975.

Desde 1982 se sabe que la enfermedad se debe a la infección por una espiroqueta, actualmente clasificada como *Borrelia (B. burgdorferi)*, que se transmite por la picadura de una garrapata (*Ixodes dammini* en EE.UU.), a través de su saliva o de las heces depositadas sobre la piel.

La enfermedad cursa en diferentes estadios como otras infecciones por espiroquetas. El período inicial se caracteriza por la aparición de un eritema crónico *migrans*, que se manifiesta como una mácula o pápula no dolorosa con rodete periférico que se extiende hasta alcanzar bastantes centímetros de extensión, frecuentemente localizada en muslo, ingle o axila, aunque puede aparecer en cualquier otro lugar en función de la picadura del vector. Se acompaña de linfadenopatías y síntomas generales como fiebre, astenia, dolores musculares y estupor, y con frecuencia se observan eritemas anulares secundarios. Tras varias semanas o meses, raramente al comienzo, los enfermos pueden presentar afectaciones del sistema nervioso central (meningitis, encefalitis, neuritis, etc.) y cardiacas (bloqueos, miocardiopatías). La mayoría de los pacientes presentan artritis de diferentes localizaciones tras varias semanas o años del inicio del proceso.

La enfermedad se sospecha por el eritema crónico *migrans* característico, y su diagnóstico diferencial con otros procesos, sobre todo reumáticos y neurológicos, se basa en la demostración de Ac frente a *B. burgdorferi*, especialmente IgM específica. El aislamiento del agente causal es difícil.

El tratamiento de elección consiste en la administración de tetraciclina.

BIBLIOGRAFIA

Canale-Parola, E.: Motility and chemotaxis of spirochetes. Ann. Rev. Microbiol., 32, 69-99, 1978.

Felsenfeld, O.: *Borrelia*, strains, vectors, human and animal borreliosis. W. H. Green, St. Louis, 1971.

Fitzgerald, T. J.: Pathogenesis and immunology of *Treponema pallidum*. Ann. Rev. Microbiol., 35, 29-54, 1981.

Johnson, R. C. (dir.): The biology of Parasitic Spirochetes. Academic Press, New York, 1976.

Holt, S. C.: Anatomy and chemistry of spirochetes. Microbiol. Rev., 42, 114-160, 1978.

Steere, A. C., y Malawista, S. E.: Lyme disease. En Mandell, G. L.; Gordon Douglas, R., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and practice of infectious diseases, 2.ª ed., 1343-1349. Wiley, New York, 1985.

Capítulo 49

Leptospira

Agustín Pumarola

CONCEPTO

El género *Leptospira* está constituido por espiroquetas muy finas, de cuerpo filiforme y espiras apretadas, con las extremidades generalmente incurvadas en forma de gancho. En campo oscuro se observan dotadas de movimientos de rotación muy activos y a diferencia de las demás espiroquetas son aerobias, producen oxidasas y se cultivan en medios artificiales.

Presentan una estructura antigénica compleja y comprenden gran número de cepas serológicamente heterogéneas, que se diferencian en leptospiras de vida saprofítica y parasitaria. Las cepas parásitas infectan a un gran número de especies animales, en las que difunden en forma enzoótica o epizoótica. En el hombre, la infección se produce de forma ocasional y da lugar a cuadros febriles de sintomatología y gravedad variables, cuya máxima expresión clínica está representada por la leptospirosis icterohemorrágica o enfermedad de Weil.

ESTRUCTURA, COMPOSICION ANTIGENICA Y CLASIFICACION

Las leptospiras son espiroquetas de 0,1 μm de diámetro y longitud variable (8-20 μm), que presentan las espiras muy apretadas (0,5 μm de longitud de espira) y las extremidades incurvadas adoptando una forma de C o S.

Fig. 49-1. *L. icterohaemorrhagiae.* Observación en campo oscuro (× 4.000).

Por su finura y escaso contraste no se distinguen en fresco con el microscopio ordinario, pero se observan claramente en campo oscuro como delgados filamentos muy brillantes, de aspecto granuloso y con extremidades en forma de gancho, dotados de movimientos muy activos de rotación y traslación (fig. 49-1).

Se tiñen débilmente por el método de Gram y de Giemsa, y se comportan como gramnegativos, pero se observan mucho mejor empleando técnicas de impregnación argéntica, que aumentan su grosor, pero modifican la morfología (fig. 49-2).

Por microscopia electrónica (fig. 49-3), su estructura se observa constituida por:

1. Un cilindro protoplasmático, de morfología helicoidal, limitado por una fina capa de peptidoglicano.
2. Dos flagelos axiales o periplásmicos, que se insertan en dos pares de discos, situados en la zona subterminal de cada extremidad, se extienden hacia la parte media y quedan libres sus extremos sin llegar a entrecruzarse.
3. Una membrana externa o envoltura, de estructura trilaminar que los recubre.

Son microorganismos que presentan pocas exigencias nutritivas y precisan que el medio de cultivo contenga albúmina, ácidos grasos de cadena larga, vitaminas y sales minerales. Se cultivan en medios líquidos y semisólidos, donde puede demostrarse la producción de algunos fermentos (oxidasas, catalasas, peroxidasas). Son aerobios estrictos, presentan un metabolismo oxidativo y utilizan los ácidos grasos y alcoholes de cadena larga como fuentes de carbono y energía. Por su finura atraviesan los filtros que normalmente retienen el paso de las bacterias (filtros esterilizantes de 0,22-0,45 μm) y son muy sensibles a los agentes externos (luz solar, temperatura, pH ácido, desecación) y antisépticos. Se conservan por pases en medios de cultivo con pérdida de la virulencia o por congelación a temperatura de – 70 y – 196 °C con conservación de la virulencia.

Su *composición antigénica* es compleja y no bien conocida. En la membrana externa se localizarían los antígenos responsables de la tipoespecificidad, que tendrían carácter protector. Existirían antígenos principales y secundarios,

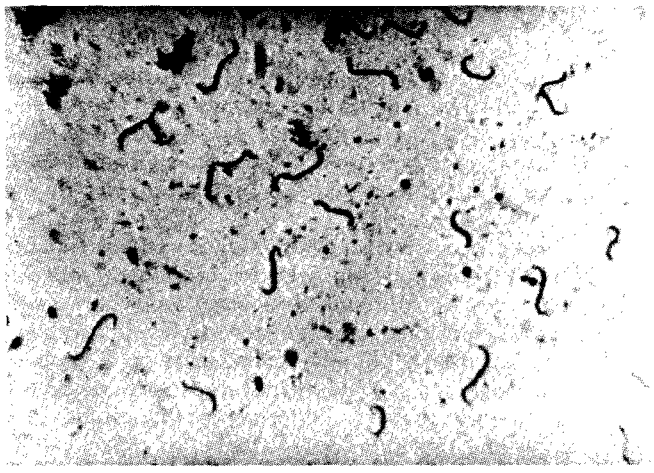


Fig. 49-2. *L. icterohaemorrhagiae.* Impregnación argéntica por la técnica de Fontana-Tribondeau (× 1.000).

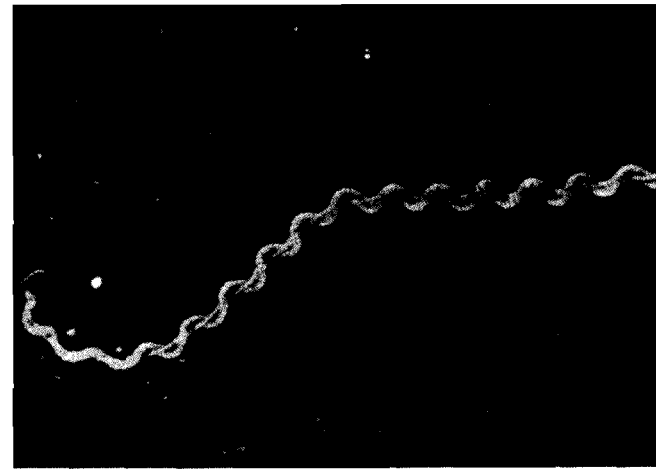


Fig. 49-3. *L. icterohaemorrhagiae.* Microscopia electrónica (× 12.500). (Simpson, C. F., y White, F. H.: J. Infect. Dis., 109, 243-250, 1961.)

cuya agrupación sería característica de los diferentes serovars y que a su vez explicarían las reacciones cruzadas que se producen con serovars relacionados. Además, se han demostrado antígenos comunes al género *Leptospira*, que estarían situados más profundamente y no tendrían carácter protector.

Teniendo en cuenta sus caracteres diferenciales con las demás espiroquetas, se ha propuesto la creación dentro del orden *Spirochaetales* de una nueva familia *(Leptospiraceae)* con un único género *(Leptospira)*, que se divide en dos especies: *L. biflexa*, que corresponde a las cepas de vida libre, que habitan en el suelo y las aguas con el serovar *patoc* como cepa tipo, y *L. interrogans*, que agrupa las cepas de vida parasitaria, con el serovar *icterohaemorrhagiae* como cepa tipo.

Las cepas saprofitas se diferencian de las parásitas por su capacidad de desarrollo en medios sin suero, a temperaturas bajas (13 °C), su resistencia a la acción inhibidora de la 8-azoguanina y su incapacidad de producir infecciones en los animales de laboratorio.

La unidad taxonómica fundamental o taxón está constituida por el «serotipo» o «serovar» (variante serológica), cuya clasificación se determina mediante la reacción de aglutinación cruzada y la prueba de adsorción de las aglutininas, y se interpretan los resultados según la regla de Wolff y Broom, que consideran que «dos cepas pertenecen a dos serotipos distintos si en los antisueros, después de adsorción cruzada con cantidades adecuadas de antígeno heterólogo, queda un 10 % o más del título homólogo, al menos frente a uno de los dos antígenos». Los serovars que presentan relaciones antigénicas se han reunido en «serogrupos» con una finalidad exclusivamente práctica.

Siguiendo estos criterios se han podido diferenciar en la especie *L. interrogans* 172 serovars, que se han reunido en 19 serogrupos (tabla 49-1), y en la especie *L. biflexa* 65 serovars, que se incluyen en 38 serogrupos.

EPIDEMIOLOGIA

La leptospirosis es fundamentalmente una *infección de los animales*, que afecta a más de 160 especies de animales salvajes y domésticos, que constituyen el reservorio y la fuente de infección para el hombre (fig. 49-4) y se considera la zoonosis más extendida. Las especies más afectadas son los roedores y los animales domésticos, especialmente los perros, el ganado bovino y el porcino. Se producen infecciones inaparentes o cuadros clínicos diversos, que difunden en los rebaños y ocasionan pérdidas económicas considerables. Como consecuencia de la infección, las leptospiras colonizan la luz de los túbulos contorneados del riñón y el animal puede eliminarlas por la orina y convertirse en un portador urinario temporal (perros, bóvidos, cerdos) o permanente (ratas).

Tabla 49-1. Leptospira interrogans. Lista de serogrupos y serovars más frecuentes aislados del hombre y de los animales

	Serovars	
Serogrupos	N.º	Serovars más frecuentes
Australis	12	*australis, bratislava, lora, muenchen*
Autumnalis	14	*autumnalis*
Ballum	3	*ballum*
Bataviae	8	*bataviae*
Butembo	1	*butembo*
Canicola	12	*canicola*
Celledoni	2	*celledoni*
Cynopteri	2	*cynopteri*
Djasiman	3	*djasiman*
Grippotyphosa	6	*grippotyphosa*
Hebdomadis	16	*hebdomadis, borincana, mini, szwajizak*
Icterahaemorrhagiae	17	*icterohaemorrhagiae, copenhageni*
Javanica	12	*javanica*
Panama	3	*panama*
Pomona	5	*pomona*
Pyrogenes	14	*pyrogenes*
Sejroe	20	*sejroe, saxkoebing, wolffi, hardjo*
Shermani	2	*shermani*
Tarassovi	21	*tarassovi*

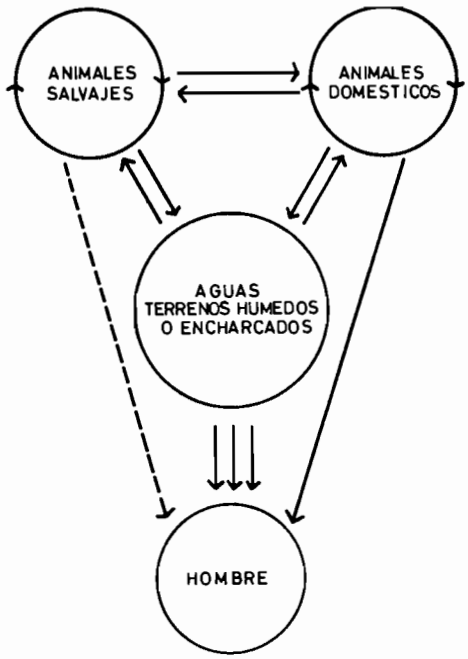


Fig. 49-4. Epidemiología de las leptospirosis.

Por lo general, cada especie animal se infecta con preferencia por un serovar y constituye el huésped principal, o de mantenimiento, pero también puede infectarse con menos frecuencia por otros y se comporta como huésped secundario o accidental. Así, la rata gris (*E. norvegicus*) es el huésped principal de serovars pertenecientes al serogrupo *Icterohaemorrhagiae*, el perro lo es del *Canicola*, el cerdo, del *pomona*, algunos roedores del campo (*Microtus arvalis*) y los bóvidos, del *grippotyphosa*, pero además pueden comportarse como huéspedes secundarios para otros serovars, situación que puede variar según la zona geográfica. En el último decenio se ha observado la difusión del serovar *hardjo* del serogrupo *Sejroe* en el ganado bovino de diversos países.

La infección del hombre se produce cuando de manera accidental entra en contacto con animales infectados (perros, animales de abasto) o aguas, terrenos o lugares contaminados por la orina del reservorio, sobre todo cuando las condiciones de temperatura (20-30 °C) y de pH (neutro o ligeramente alcalino) facilitan la supervivencia de las leptospiras. Ocurre en los ríos, canales, acequias, zonas pantanosas, terrenos de cultivo, minas, establos, mataderos, fábricas de curtidos y las de conservas. Por esto, la leptospirosis es fundamentalmente una enfermedad profesional, asociada a determinadas ocupaciones que facilitan el contacto con los animales o sus productos (veterinarios, pastores, mozos de establo, matarifes, carniceros, triperos), terrenos húmedos (trabajadores del campo y en especial los segadores del arroz) y lugares encharcados (mineros, obreros de la construcción, empleados en la limpieza de alcantarillas).

Por otra parte, cada vez es mayor el número de infecciones que se producen con motivo de actividades recreativas (pescadores, excursionistas, bañistas), especialmente durante los períodos de ocio, cuando la población urbana se desplaza al medio rural (fines de semana, vacaciones) y entra en contacto con animales, aguas y terrenos contaminados.

PATOGENIA Y CUADRO CLINICO

No se conoce con certeza los determinantes de la acción patógena, pero se ha señalado en los cultivos la producción de fermentos (catalasas, hialuronidasas), sustancias tóxicas por algunas especies patógenas (hemolisinas, fibrinolisinas) y también productos semejantes a las endotoxinas de los bacilos gramnegativos.

Se consideran microorganismos muy invasivos, capaces de penetrar a través de la piel (heridas, erosiones y aún mínimas soluciones de continuidad facilitadas por la maceración de la piel en el agua) o de las mucosas (conjuntival, nasal, bucal y faríngea) y difundir rápidamente en el organismo por vía sanguínea, a consecuencia de factores puramente mecánicos o por la acción de fermentos (hialuronidasas), produciendo una vasculitis generalizada. Su capacidad lesional se considera debida fundamentalmente a factores tóxicos (hemolisinas, endotoxinas) y algunas complicaciones que aparecen en el curso de la enfermedad, como la afectación renal o meníngea, se ha sugerido que podrían ser de causa inmunológica (complejos Ag-Ac, reacciones de hipersensibilidad retardada).

El *cuadro clínico* es muy variable, y puede presentarse desde formas menores muy benignas a formas graves de evolución mortal. En los casos típicos, después de un período de incubación de 5 a 20 días, la enfermedad presenta un curso bifásico (fig. 49-5), caracterizado por una primera fase de diseminación hemática de 3 a 10 días de duración, fase febril o de leptospiremia, seguida de una segunda fase en que las leptospiras desaparecen de la sangre y se eliminan por la orina, período en el que se detecta un aumento progresivo del título de anticuerpos, fase inmune o de leptospiruria.

El cuadro se inicia por lo general de forma brusca, y aparecen escalofríos, fiebre elevada, cefalalgia, mialgias generalizadas e inyección conjuntival, con malestar y, a veces, postración y sensación de enfermedad aguda grave, que pueden ir acompañados de signos de afectación renal o meníngea. Con menos frecuencia se pueden observar linfadenopatías, exantemas, y diversos síntomas respiratorios y digestivos.

En la segunda fase, la fiebre disminuye por crisis o lisis, y en algunos casos a los 3-5 días de la apirexia aparece una recaída febril. Durante este período pueden presentarse signos de localización orgánica, que caracterizan las distintas formas clínicas. Se pueden distinguir:

Forma febril o anictérica. Presenta la sintomatología de la fase de leptospiremia sin que se observen signos de localización orgánica. Es la forma más frecuente (60-90 % de leptospirosis) y benigna, que por lo general cura espontáneamente. Por la inespecificidad de sus síntomas pasa a menudo inadvertida y se confunde con otras enfermedades (gripe, tifoidea, reumatismo, paludismo), sobre todo en el medio rural. Debe sospecharse ante todo cuadro febril de origen desconocido, cuando existen antecedentes epidemiológicos.

Forma meningítica. Después del período febril aparece el síndrome meníngeo con pleocitosis linfocítica, proteínas aumentadas, glucosa y cloruros normales.

Forma hepatonefrítica o ictérica. A los 3-5 días del período febril aparece ictericia y hepatomegalia, con albumi-

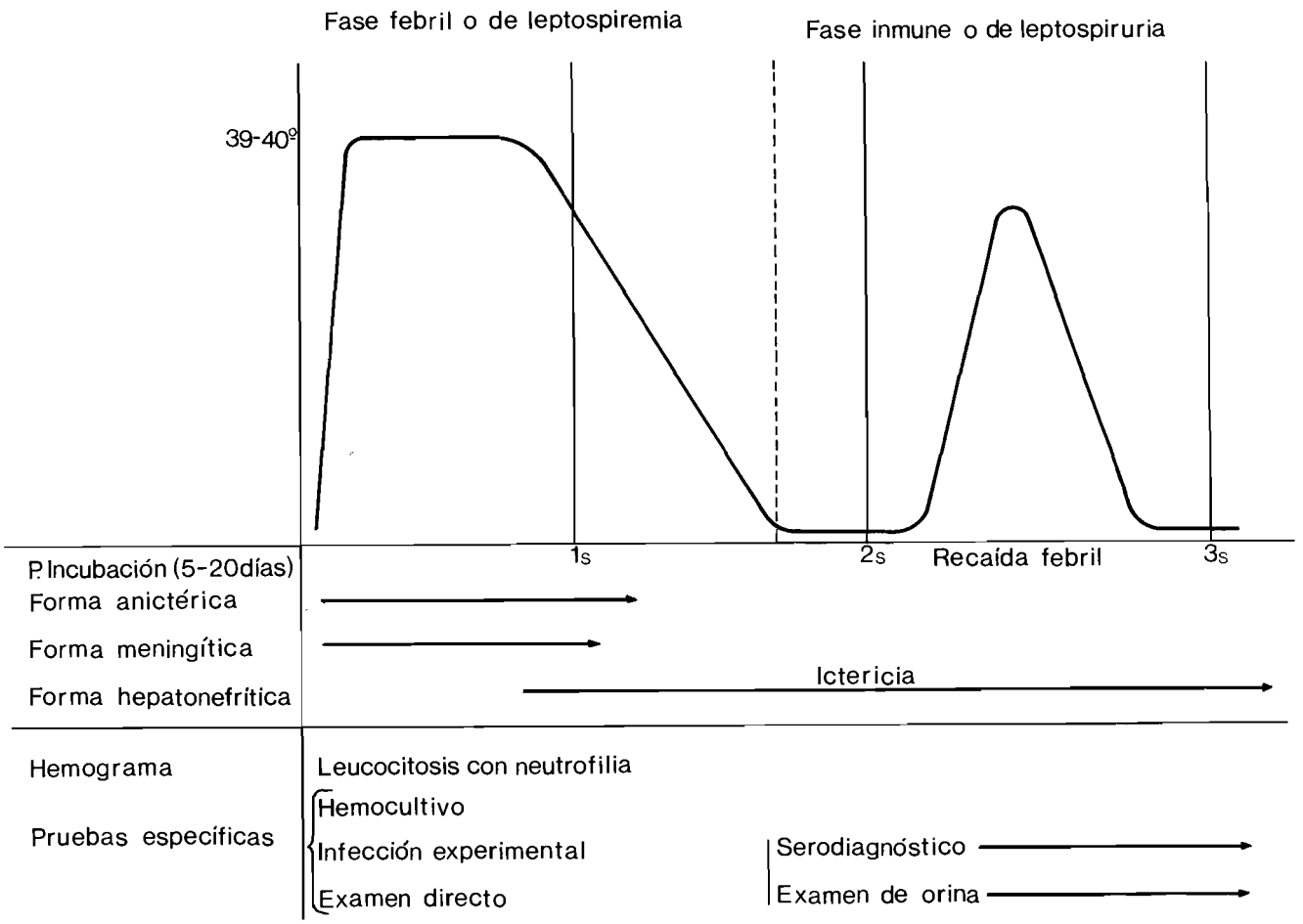


Fig. 49-5. Evolución de la leptospirosis.

nuria, hematuria y cilindruria. La asociación de hepatitis, nefritis con ictericia y tendencia a las manifestaciones hemorrágicas constituye la clásica enfermedad de Weil.

En la mayoría de los casos se observa leucocitosis moderada con neutrofilia, y la enfermedad deja una gran astenia y debilidad, que prolongan la convalecencia durante 3-4 semanas.

Además, pueden presentarse *formas inaparentes* sin sintomatología, que se descubren por examen serológico, *formas menores* con fiebre escasa de corta duración, que son muy benignas, y *formas graves* especialmente hepatonefríticas, que van acompañadas de hipotensión, oliguria y uremia, que a veces requieren diálisis, con una letalidad del 5-15 %, por debilidad circulatoria o fallo renal.

En relación con el tropismo orgánico intervienen factores dependientes de la leptospira causal y del huésped; las formas ictéricas se presentan con mayor frecuencia por el serovar *icterohaemorrhagiae* y en adultos, mientras que las formas meningíticas por el serovar *pomana* se observan en adolescentes y adultos jóvenes. Por otra parte, la frecuencia de las formas ictéricas varía del 3-20 % según el serovar y el conocimiento que se tenga de la enfermedad en la zona.

Como consecuencia de la enfermedad se produce una inmunidad que protege frente al mismo serovar y en grado menor frente a los restantes componentes del mismo serogrupo, cuya duración no se conoce. No se han observado reinfecciones por un mismo serovar, pero sí por serovars de otros serogrupos.

La leptospirosis es una de las infecciones más extendidas. En los últimos 20 años se ha demostrado en gran número de países y puede considerarse una infección de difusión mundial. Aunque no se conoce su distribución con exactitud, las infecciones más frecuentes e importantes están producidas por los serovars pertenecientes a los serogrupos *Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Grippotyphosa, Pomona, Hebdomadis, Sejroe, Australis* y *Autumnalis* (tabla 49-2).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Durante el período febril o de leptospiremia, puede demostrarse la presencia de leptospiras en la sangre y LCR por examen directo, cultivo o inoculación experimental. Durante la fase inmune o de leptospiruria, el diagnóstico se basa en la demostración de anticuerpos en el suero del enfermo y, en algunos casos, de leptospiras en la orina. A este respecto es importante que los clínicos y en especial los médicos rurales conozcan la enfermedad, para solicitar las pruebas de laboratorio en época oportuna.

Tabla 49-2.

Serogrupos	Serovars	Cepas de referencia	Reservorio principal
Icterohaemorrhagiae	*icterohaemorrhagiae*	RGA	Ratas *(Epymis)*, otros roedores,
	copenhageni	Wijnberg	perros, cerdos, ganado
Canicola	*canicola*	Hond Utrecht IV	Perros, cerdos
Ballum	*ballum*	S 102	Roedores *(Epymis, Apodemus)*
Grippotyphosa	*grippotyphosa*	Moskva V	Roedores *(Microtus)*, Bóvidos
Pomona	*pomona*	*Pomona*	Cerdo bóvidos.
Tarassovi	*tarassovi*	*Mitis* Johnson	Cerdo
Hebdomadis	*hebdomadis*	*Hebdomadis*	Roedores *(Mus, Apodemus,*
Sejroe	*sejroe*	M24	*Microtus)*, bóvidos.
	hardjo	Hardjoprajitno	
Australis	*australis*	*Ballico*	Ratas *(Epymis)*, cerdos
	bratislava	Jez Bratislava	
Autumnalis	*autumnalis*	Akiyami A	Roedores *(Apodemus, Microtus)*
	fort-bragg	*Fort-Bragg*	

Toma de muestras

Las muestras de sangre y LCR para examen directo o cultivo deben obtenerse asépticamente durante los primeros días de la enfermedad y las de orina, a los 10-15 días. Es fundamental que la muestra sea reciente y obtenida antes de iniciar el tratamiento, pues las leptospiras se lisan por la orina ácida y algunos antibióticos. Para la prueba de aglutinación microscópica con suspensiones vivas, se debe obtener suero en condiciones asépticas sin la adición de antisépticos.

Examen directo

La observación directa en campo oscuro de sangre o LCR obtenido de los enfermos durante el período febril por lo general no permite la demostración de leptospiras debido a su escasa concentración ($< 50.000 \times$ ml), y, además, se producen artefactos y falsas imágenes de origen celular que pueden inducir diagnósticos erróneos.

En los tejidos, la demostración puede realizarse mediante técnicas de impregnación argéntica en cortes (método de Levaditi) o en frotis (método de Fontana-Tribondeau) y también por inmunofluorescencia directa. En cualquier caso, el diagnóstico debe ser confirmado por aislamiento o serología.

Métodos de aislamiento e identificación

Pueden aislarse leptospiras de la sangre, orina y LCR por métodos de cultivo y menos veces por inoculación experimental.

Cultivo

Las leptospiras se cultivan en medios artificiales constituidos por una solución de sales minerales y aminoácidos, a los que se añade suero de conejo (medios de Fletcher, Korthof y Stuart) o albúmina bovina con Tween-80 (medio de Ellinghausen, McCullough, Johnson y Harris o EMJHL). Los medios de cultivo pueden ser líquidos o semisólidos.

El cultivo de los productos del enfermo durante el período febril es uno de los métodos de elección para el diagnóstico. A partir de productos estériles especialmente de sangre (hemocultivos) o de LCR se siembran 1 ó 2 gotas del producto en medios líquidos o semisólidos que se incuban a 28-30 °C. Debido a su lento desarrollo, sólo se observa crecimiento a partir de la primera semana, generalmente a las 2-3 semanas, y el cultivo no debe considerarse negativo hasta después de 1 mes. En medios líquidos se produce enturbamiento con formación de ondas, y en los medios semisólidos el desarrollo se inicia a 1-2 cm de la superficie. Con productos contaminados (orina, triturado de órganos) debe eliminarse la contaminación por diversos métodos: dilución, filtración, adición de sustancias inhibidoras (5-fluorouracilo, cicloheximida, ácido nalidíxico, neomicina, sulfatiazol) o inoculación al cobayo por vía intraperitoneal y cultivo de la sangre obtenida por punción cardiaca al cabo de poco tiempo.

Inoculación experimental

Por inoculación de sangre, orina o LCR al cobayo o hámster por vía intraperitoneal se produce a los pocos días un cuadro febril con leptospiremia, generalmente benigno y autolimitado, que en algunos casos *(L. icterohaemorrhagiae, L. autumnalis, L. canicola)* puede ir seguido a los 10-15 días de la muerte del animal con ictericia y hemorragias. En la autopsia se observa ictericia y hemorragias puntiformes en la piel y mucosas, así como en la mayoría de órganos, hígado, riñón, cápsulas suprarrenales y especialmente pulmón, cuyo aspecto se ha comparado al de las alas moteadas de las mariposas del género *Vanesa*. Como en general la concentración de leptospiras en sangre y órganos es elevada, la infección puede demostrarse por examen directo de la sangre y líquido peritoneal, cultivo de la sangre del corazón, (4-6 días) y examen directo y cultivo del hígado o riñón en los casos de autopsia, así como la demostración de anticuerpos al cabo de 1 mes de la inoculación. Por su escasa sensibilidad no acostumbra utilizarse como método de diagnóstico.

Identificación

La identificación de la cepa aislada se efectúa por pruebas de aglutinación microscópica. En una primera fase se ensaya la cepa y el antisuero obtenido por inmunización de

conejos, frente a una batería de sueros de grupo y cepas de referencia para la identificación del serogrupo; en la segunda fase se procede a la determinación del serovar mediante pruebas de absorción cruzada frente a todos los componentes del serogrupo.

Métodos serológicos

Reacción microscópica de aglutinación

La reacción de aglutinación con suspensiones vivas y lectura microscópica en fondo oscuro se considera el método de referencia para el diagnóstico, por su sensibilidad y especificidad, y debe practicarse la reacción frente a una batería de serovars representativos de los serogrupos más frecuentes en la zona.

La reacción se considera significativa: *a)* cuando se demuestra una seroconversión o un aumento significativo del título de anticuerpos entre dos muestras de suero obtenidas, una en los primeros días de la enfermedad y la segunda de 7 a 15 días después, o *b)* cuando se obtienen títulos elevados en una muestra. En general y según las condiciones de la reacción, títulos iguales o superiores a 1/300-1/500 pueden considerarse significativos de infección reciente en enfermos con cuadro clínico compatible. En ausencia de tratamiento con antibióticos o corticoides se pueden alcanzar títulos de 1/10.000 e incluso superiores, que disminuyen después de la curación, y persisten títulos residuales durante mucho tiempo. De ahí su utilidad en las encuestas epidemiológicas.

La interpretación de los títulos bajos obtenidos con un solo suero es más difícil, pues pueden ser debidos al período de la enfermedad en que se obtuvo la muestra y a la precocidad del tratamiento antibiótico, y ser el exponente de una aglutinación de grupo o el título residual de una infección anterior.

La existencia de frecuentes reacciones cruzadas hace que en ocasiones sea difícil determinar con certeza el serovar causal. Hay que tener en cuenta que las coaglutininas pueden presentarse a título elevado frente a varios serovars y, en las fases iniciales de la enfermedad, incluso a título más elevado que frente al serovar causal (reacción paradójica de Pfühner). En general, sólo puede conocerse con certeza el serovar causal por aislamiento de la cepa de los productos del enfermo, pero, cuando no es posible, la obtención de nuevas muestras de suero para el estudio de la cinética de anticuerpos y la práctica de absorciones, puede llevar al conocimiento del serogrupo y en ocasiones del serovar. La determinación de las IgM específicas mediante la técnica ELISA puede permitir el diagnóstico durante la primera semana de la enfermedad.

Reacciones macroscópicas de orientación

La reacción de aglutinación microscópica con suspensiones vivas es de ejecución laboriosa y exige el mantenimiento de cultivos. Para obviar estos inconvenientes se han utilizado reacciones de aglutinación microscópica con suspensiones formoladas y sobre todo reacciones rápidas de aglutinación macroscópica, practicando la reacción en portaobjetos con mezclas o *pools* de leptospiras que cubran un amplio espectro de serovars. Son reacciones menos sensibles y específicas que requieren suspensiones concentradas que conserven su estabilidad, y es necesario controlar la especificidad de la reacción con sueros de referencia.

Por otra parte, se ha estudiado la posibilidad de utilizar pruebas que permitan detectar anticuerpos frente al antígeno de grupo común (antígeno específico de género) y, por tanto, seleccionar la mayoría de sueros positivos en casos recientes para su estudio posterior por la reacción de aglutinación microscópica. Se incluyen en este apartado las reacciones de aglutinación en portaobjetos con el serovar *patoc* de *L. biflexa* y con el antígeno termorresistente (antígeno TR) de Mazzonelli y Mailloux, la reacción de fijación del complemento con antígeno compuesto de Turner y Coghland, así como las reacciones de hemaglutinación y de hemólisis indirecta.

TRATAMIENTO

Las leptospiras son en general sensibles a la penicilina y tetraciclina. La administración de estos antibióticos durante el período de leptospiremia acorta la duración de la enfermedad y disminuye la afectación hepática y renal, así como la gravedad. Más adelante, con las lesiones ya establecidas, la eficacia del tratamiento antibiótico es mucho menor. En los tratamientos durante la fase febril con dosis elevadas de penicilina, es frecuente la aparición de reacciones de Herxheimer que ceden a las 24 horas.

PROFILAXIS

Las medidas de lucha contra el reservorio, como la desratización en el campo, la separación, tratamiento o sacrificio de los animales enfermos, y la destrucción de leptospiras en los terrenos que están encharcados, han dado resultados aleatorios.

Por otra parte, el cambio en las condiciones ecológicas mediante el drenaje de los terrenos y la sustitución de los cultivos, las medidas de protección individual (guantes, botas, prohibición de beber agua de ríos, bañarse, andar descalzo), la mecanización de la siega y el control sanitario de los animales importados, junto con la construcción de edificios a prueba de ratas, la limpieza de los establos y la desinfección con hipoclorito, han sido más positivos.

Vacunas

La vacunación constituye el método más eficaz. Se han preparado vacunas totales inactivadas por formol, calor o β-propiolactona con leptospiras de los serovars más frecuentes, eliminando las seroproteínas del medio por centrifugación o cultivo en medios químicamente definidos (Shenberg, 1973) para evitar las reacciones secundarias. Se han empleado para la protección de los grupos más expuestos al contagio, como los obreros de las minas de carbón (Japón), segadores de arrozal (Italia, España), trabajadores en la limpieza de alcantarillas (Francia) y en faenas de irrigación (Israel), los granjeros, obreros y tropas en las áreas endémicas (Vietnam, China). Aunque los resultados han sido en general satisfactorios, existe el problema de la preparación de

una vacuna de amplio espectro antigénico que confiera protección frente a la mayoría de serovars de la zona.

En España, donde la leptospirosis de los arrozales está producida en el 90 % de los casos por los serovars *icterohaemorrhagiae* y *ballum*, se han preparado vacunas bivalentes, de base acuosa (2 dosis) y absorbidas en gel de alúmina (1 dosis), que administradas a los segadores recientes 1 mes antes de la siega les protege durante el período de contagio. Se realizó una prueba de campo controlada en el Delta del Ebro (Covaleda y Pumarola, 1953), y en los 20 años posteriores se fue extendiendo progresivamente la vacunación, observándose una disminución de la enfermedad en las zonas vacunadas.

En los animales domésticos, la vacunación se ha empleado con mayor frecuencia para reducir las pérdidas económicas ocasionadas por la infección de los rebaños. Se han utilizado vacunas inactivadas de base acuosa, absorbidas o con adición de aceites minerales, que se han empleado en la mayoría de países para la protección de la población canina y cuyo uso se está extendiendo para el ganado bovino y porcino. Teniendo en cuenta que la vacunación en los animales debe proteger no solamente frente a la enfermedad, sino, además, evitar la infección renal y el estado de portador, se han preparado vacunas vivas con cepas avirulentas obtenidas por irradiación mediante rayos γ o por cultivos en medios especiales y vacunas con antígenos purificados de la envoltura externa que se encuentran en un período de estudio.

Quimioprofilaxis

La administración de penicilina, inmediatamente después de una infección accidental o incluso en casos de fuerte exposición al contagio (siega de arroz), ha dado en general buenos resultados.

BIBLIOGRAFIA

Alexander, A. D.: Leptospira. En Lennette, E. H.; Balows, A.; Hausler, W. S., y Shadony, H. J. (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed., cap. 42, págs. 473-478. American Society for Microbiology, Washington, 1985.

Babudieri, B.: Leptospirosis. Trattato di Malattie Infettive. Edizione Scientifiche Italiana, Napoli, 1965.

Bey, R. F., y Johnson, R. C.: Humoral immune response of cattle vaccinated with leptospirae pentavalent outer envelope and whole culture vaccines. Am. J. Vet. Res., 39, 1109, 1978.

Brygoo, E. R., y Mailloux, M.: Diagnostic des infections dues aux spirochètes. Maloine, Paris, 1974.

Cacciopuoti, B.; Pinto, A., y Silva, I.: Antigenic population changes of *L. biflexa* strains grown under selective pressure of factorial antibodies. J. Gen. Microbiol., 131, 521-526, 1985.

Covaleda, J.; Pumarola, A., y Cantarell, L.: Leptospirosis por *L. ballum* en los arrozales de Camarles (Delta del Ebro). Rev. Iber. Parasitol., 13, 289, 1953.

Covaleda, J., y Pumarola, A.: La leptospirosis en España. Libro de Actas del IV Congreso Internacional de Higiene y Medicina Mediterránea, 19. Barcelona, 1953.

Ellinghausen, H. C., Jr., y McCullough, W. G.: Nutrition of *L. pomona* and growth of other 13 serotypes: fractionation of oleic albumin complex and a medium of bovine albumin and polysorbate 80. Am. J. Vet. Res., 26, 45, 1965.

Faine, S.: Guidelines for the control of leptospiroses, W.A.D. offset publication n.° 67. World Health Organization, Geneva, 1982.

Gimeno de Sande, A., y Pumarola, A.: La leptospirosis en los arrozales de España. Rev. San. Hig. Públ., 41, 1, 1967.

Gsell, L.: Leptospirosen. Huber, Berna, 1952.

Heath, C. W.; Alexander, A. D., y Galto, M. M.: Leptospirosis in USA. N. Engl. J. Med., 273, 857, 1965.

Houvind-Hougen, K.: *Leptospiraceae*, a new family. Int. J. Syst. Bacteriol., 29, 245-251, 1979.

Kmety, E.: Faktorenanalyse von Leptospiren der Icterohaemorrhagiae und einiger werwandter Serogruppen. Biologicke prace Slovenskej Akademie vied, 8, 3, 1967.

Mazzonelli, J.; Dorta de Mazzonelli, G., y Mailloux, M.: Possibilité de diagnostic serologique macroscopique des leptospiroses à l'aide d'un antigène unique. Med. Mal. Infec., 4, 253-254, 1974.

Organización Mundial de la Salud: Diagnóstico de la leptospirosis y tipificación de las leptospiras. Serie de Informes técnicos, n.° 113. OMS, Genève, 1957.

Organización Mundial de la Salud: Problemas actuales de las investigaciones sobre leptospirosis. Serie de Informes técnicos, n.° 380. OMS, Genève, 1967.

Sulzer, K. R., y Jones, W. L.: Leptospirosis. Methods in laboratory. Diagnosis U. S. Department of Health and Human Services. Publ. Health Ser., CDC, 1980.

Terpstra, E. L.; Ligthart, G. S., y Schoone, G. J.: Serodiagnosis of human leptospirosis by enzyme-linked-inmunosorbent assay (ELISA), Zentralbl. Bakteriol. Hyg., 1 Abt. Orig., Reihe A, 247, 400-405, 1980.

Turner, L. H.: Leptospirosis. Br. Med. J., 1, 231, 1969.

Capítulo 50

Micoplasmas

Agustín Pumarola

CONCEPTO

Los micoplasmas son microorganismos procariotas, de pequeño tamaño, que carecen de pared celular. Se consideran las bacterias más pequeñas capaces de dividirse y vivir de forma independiente.

Debido a su pequeño tamaño, pasan a través de los filtros que retienen el paso de las bacterias, pero se diferencian de las rickettsias, clamidias y virus, porque se cultivan en medios artificiales exentos de células vivas y por otras propiedades (tabla 50-1).

La ausencia de pared celular condiciona sus principales características: plasticidad y pleomorfismo, afinidad por las membranas celulares, sensibilidad a la lisis osmótica y resistencia a los antibióticos que actúan sobre la pared celular. Se distinguen de las bacterias que han perdido su pared celular, como los protoplastos, esferoplastos y formas L (cap. 3), porque los micoplasmas no derivan de bacterias ni pueden revertir a ellas.

Presentan una estructura celular muy simple, su actividad metabólica es limitada con producción de energía y escasa capacidad de síntesis, y se multiplican por división binaria. En consecuencia, sus necesidades nutritivas son variadas y complejas, y se desarrollan *in vitro* en medios artificiales enriquecidos y en el organismo en estrecha asociación con la membrana de las células que constituyen su fuente de nutrientes, por lo que se han denominado «parásitos de las membranas».

En conjunto, constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, especialmente en el hombre, animales, insectos y plantas. En los animales y plantas producen diversas enfermedades que tienen importancia económica. La mayoría de especies que afectan al hombre se encuentran como comensales de las mucosas, pero una de ellas, *Mycoplasma pneumoniae*, es claramente patógena para el aparato respiratorio y en otras dos (*M. hominis* y *U. urealyticum*) se sospecha su intervención en diversos procesos del área urogenital.

CLASIFICACION

Inicialmente se denominaron organismos PPLO (*pleuropneumonia-like organisms*), porque el primero que se aisló (*M. mycoides*) era el agente causal de la pleuroneumonía de los bóvidos. Más tarde, por presentar formas filamentosas y un aspecto parecido a los hongos, se designaron con el nombre de micoplasmas, pero, al descubrirse diversos nuevos agentes, se sintió la necesidad de precisar su posición taxonómica y se creó la clase *Mollicutes* (piel blanda) para incluir los microorganismos de pequeño tamaño, caracterizados por su plasticidad y ausencia de pared celular.

En la actualidad se clasifican en la clase *Mollicutes* y orden *Mycoplasmatales*, que atendiendo a sus necesidades en esteroles y tamaño del genoma se ha dividido en tres fami-

Tabla 50-1. Caracteres diferenciales de las bacterias, micoplasmas, rickettsias, clamidias y virus

	Bacterias	Micoplasmas	Rickettsias	Clamidias	Virus
Tamaño (nm)	300-3.000	300-800	500 × 300	350	15-350
Forma	Diversa	Pleomorfa	Cocobacilar	Cocoide	Simetría
Pared celular	+	–	+	+	–
Ribosomas	+	+	+	+	–
ADN y ARN	2	2	2	2	1
Producción de energía	+	+	+	–	–
División binaria	+	+	+	+	–
Crecimiento en medios inanimados	+	+	–	–	–
Sensibilidad a:					
Antibióticos	+	+	+	+	–
Interferón	–	–	–	+	+

Tabla 50-2. Clasificación de los micoplasmas de la clase Mollicutes, orden Mycoplasmatales

Familias	Géneros	Especies	Hábitat
Mycoplasmataceae Requiere esteroles; genoma 5×10^8; G + C (23-41 %)	*Mycoplasma* (ureasa −)	69	Hombre y animales
	Ureaplasma (ureasa +)	1 (8 serotipos)	Hombre y animales
Acholeplasmataceae No requiere esteroles; genoma 1×10^9; G + C (29-35 %)	*Acholeplasma*	8	Hombre y animales
Spiroplasmataceae Requiere esteroles; genoma 1×10^9; G + C (26-30 %)	*Spiroplasma* Filamentos helicoidales	3	Insectos y plantas
	Géneros de clasificación incierta		
	Anaeroplasma (anaerobios)	2	Rumen de óvidos y bóvidos
	*Thermoplasma** (termófilos y acidófilos)	1	Basuras en fermentación y carbón en ignición

*Posiblemente se deba incluir en la clase *Archaebacteriae*.

lias (tabla 50-2). La familia *Mycoplasmataceae* requiere esteroles para su crecimiento y según su actividad ureásica se divide en dos géneros, *Mycoplasma* (ureasa-negativo) y *Ureaplasma* (ureasa-positivo). El primero se compone de cerca de 60 especies, en su mayoría comensales y algunos patógenos para los animales o el hombre. La especie más importante para el hombre es *M. pneumoniae*, que interviene en la producción de un buen número de neumonías y de otros procesos respiratorios. El género *Ureaplasma* consta de una sola especie *U. urealyticum*, que se ha dividido en 8 serotipos y cuya acción patógena no se conoce con certeza.

La familia *Acholeplasmataceae* es la única que no requiere esteroles. Consta de un solo género, *Acholeplasma*, que incluye 8 especies saprofitas o patógenas en su mayoría para los pájaros. Una especie *A. laidlawii* se ha aislado de la orofaringe del hombre.

La familia *Spiroplasmataceae* está constituida por un solo género, *Spiroplasma*, caracterizado por necesitar esteroles y producir en alguna fase de su desarrollo filamentos de forma helicoidal. Se conocen tres especies que pueden producir enfermedades en las plantas (cactus, cítricos, maíz, arroz) y en los insectos (abejas, mosca *Drossophila*).

Por otra parte, se conoce la existencia de dos géneros de posición taxonómica incierta: el género *Anaeroplasma*, compuesto por especies anaerobias, que se encuentran en el tubo digestivo de los rumiantes y de las cuales *A. bactoclasticum* presenta, además, la capacidad de digerir bacterias, y el género *Thermoplasma* con una especie, *T. acidophilum*, caracterizada por tener una temperatura óptima de crecimiento de 59 °C y un pH óptimo de 1 a 2; se encuentran en las pilas de carbón de madera y basuras en fermentación.

Tabla 50-3. Principales micoplasmas humanos

Géneros	Especies	Mucosa
Mycoplasma	*M. pneumoniae*	Respiratoria
	M. salivarium	Orofaríngea
	M. orale	Orofaríngea
	M. buccale	Orofaríngea
	M. faucium	Orofaríngea
	M. lipophilum	Orofaríngea
	M. hominis	Urogenital
	M. fermentans	Urogenital
	M. primatum	Urogenital
	M. genitalium	Urogenital
Ureaplasma	*U. urealyticum*	Urogenital
Acholeplasma	*A. laidlawii*	Orofaríngea

Los micoplasmas del hombre y de los animales presentan especificidad de especie. Los micoplasmas humanos comprenden alrededor de 12 especies, que viven en estrecha asociación con las membranas celulares de las mucosas orofaríngea y urogenital, y se han dividido en micoplasmas respiratorios y genitales (tabla 50-3). Entre los micoplasmas respiratorios, *M. pneumoniae* es el más importante y el único patógeno conocido. De los micoplasmas genitales, sólo dos especies, *M. hominis* y *U. urealyticum*, pueden tener interés clínico. Recientemente se ha aislado una nueva especie *M. genitalium*, cuya importancia no se conoce.

PROPIEDADES GENERALES

Morfología y estructura

Los micoplasmas pueden presentar formas diversas, cocoides, alargadas, filamentosas y estrelladas. La forma básica es la cocoide o esferoidal, con un diámetro de alrededor de 300 nm. En las mucosas se observan formas alargadas y en los cultivos en ciertas condiciones, formas filamentosas (50-100 µm × 0,4-0,3 µm), que pueden ramificarse y adoptar un aspecto pseudomiceliano, y que más tarde se transforman en cadenas de elementos cocoides y, por último, se liberan.

Por microscopia electrónica se observa que las formas cocoides presentan una estructura muy simple, constituida por una membrana citoplásmica trilaminar, que a diferencia de la bacteriana contiene esteroles, un citoplasma con ribosomas, sin orgánulos ni membranas intracitoplásmicas, y un núcleo de pequeño tamaño (5×10^8 a 1×10^9 daltons) y bajo contenido G + C, formado por una cadena circular de ADN bicatenario.

Algunas especies son móviles debido a la presencia de flagelos (*Thermoplasma*) y otras pueden presentar movimientos de rotación (*Spiroplasma*) o de deslizamiento (*Mycoplasma*).

En algunos micoplasmas animales se ha observado la presencia de una pequeña cápsula mucosa, constituida por polímeros extracelulares de galactano (*M. mycoides*) o de hexosamina (*A. laidawii*). En las especies humanas, como *M. pneumoniae* y *U. urealyticum*, por microscopia electrónica y tinción con rojo de rutenio se ha detectado la presencia de una fina cápsula amorfa sin que se haya podido determinar su naturaleza y función.

En las especies patógenas del género *Mycoplasma*, que presentan motilidad por deslizamiento, como *M. pneumoniae*, se ha observado en la célula la presencia de una pequeña zona terminal en forma de bulbo, que contiene en su interior una estructura proteica o core, en forma de bastón estriado, denso a los electrones y rodeado de una zona más clara, que se considera una estructura especializada relacionada con la motilidad; no se conoce si esta estructura es contráctil o sólo sirve de apoyo a filamentos contráctiles del tipo de la actina. Por otra parte, en la membrana de esta zona se ha observado la presencia de proteínas especificas de superficie, de morfología fibrillar, semejantes a peplómeros, que le comunican un mayor grosor y que estarían relacionadas con la capacidad de fijación a la membrana de las células epiteliales de las mucosas.

Necesidades nutritivas

Los micoplasmas son microorganismos muy exigentes y precisan la adición al medio de esteroles y ácidos grasos (a excepción del género *Acholeplasma*), que utilizan para la síntesis y regulación funcional de la membrana, además de diversos sustratos, como glucosa (*M. pneumoniae*), arginina (*M. hominis*) y urea (*U. urealyticum*), que emplean probablemente para la síntesis de ATP, y de diversos nutrientes y factores de crecimiento con una osmolaridad elevada. Se cultivan en un medio básico (caldo PPLO) con adición de suero de caballo (esteroles), extracto de levadura y diversos sustratos, con rojo fenol como indicador del crecimiento y penicilina y acetato de talio para la inhibición de la flora asociada.

Antígenos

Los más importantes se encuentran localizados en la membrana. Las proteínas y polisacáridos de la membrana se encuentran relacionados con la adherencia, y sus anticuerpos presentan acción protectora, pues inhiben la capacidad de fijación de los micoplasmas en las células epiteliales. Los antígenos glicolípidos se comportan como haptenos, y sus anticuerpos son los responsables de la acción inhibidora de la actividad metabólica y en presencia de complemento producen su lisis. Se ha demostrado que su acción protectora es menor, pero, además, presentan relaciones con los glicolípidos de otros micoplasmas y de las células del organismo, en especial con las células del pulmón, corazón, cerebro, riñón y músculo liso, y frente al antígeno I de los hematíes humanos del grupo O, lo que explica la aparición en el curso de la enfermedad y convalecencia de autoanticuerpos frente a diversos tejidos del huésped, que podrían estar relacionados con la aparición de algunas manifestaciones clínicas.

ACCION PATOGENA

Se supone que la infecciosidad está relacionada con la capacidad de adherencia a los epitelios y la acción lesional puede producirse por acción directa del parásito sobre las células o por mecanismo inmunológico.

Adherencia

La adherencia es debida a la presencia de glicoproteínas fibrillares específicas (proteína P^1), sensibles a la tripsina, que cubren del 40-60 % de la superficie externa del micoplasma y se encuentran en relación con receptores de la membrana de las células epiteliales que contienen ácido neuramínico (ácido siálico), pues la neuraminidasa destruye los receptores e inhibe la fijación.

En los cultivos de órganos (tráquea o trompa de hámster) se observa cómo los micoplasmas adoptan formas alargadas que se fijan por su estructura terminal en la membrana de las células cerca de la base de los cilios y dan lugar a parálisis del movimiento ciliar, vacuolización y descamación de las células epiteliales, con profundas alteraciones metabólicas del órgano inoculado.

Acción directa

La acción lesional directa se produce sólo cuando los micoplasmas se encuentran adheridos a la membrana. El mecanismo de esta acción no se conoce con certeza, pero se ha sugerido que algunos productos finales del metabolismo bacteriano pueden intervenir en la acción patógena. *M. pneumoniae* produce una hemolisina de tipo β que lisa los hematíes de caballo o de conejo, debido a la formación de peróxido de hidrógeno en el curso del metabolismo de la glucosa. De la misma manera, la descomposición de la arginina y de la urea por los micoplasmas no fermentadores (*M. hominis* y *U. urealyticum*, respectivamente) produce amoniaco. Se considera que la producción constante de pequeñas cantidades de estos productos en contacto con la membrana de las células epiteliales puede ser la causa de las alteraciones celulares responsables de la enfermedad, que por lo general presentan una tendencia a la cronicidad. En los micoplasmas humanos no se conoce la producción de toxinas o de factores tóxicos.

Inmunidad

Como consecuencia de la infección se produce una respuesta inmune humoral y celular. La respuesta humoral se caracteriza por la aparición de anticuerpos en el suero y en las mucosas. Se ha demostrado que la acción protectora está más relacionada con la presencia de anticuerpos locales (IgA secretora) que de anticuerpos séricos (IgM e IgG). Mientras que los anticuerpos locales inhibirían la fijación y, por tanto, la infección, el papel protector de los anticuerpos séricos (inhibidores de las actividades metabólicas y mico-

plasmicidas) no sería tan clara, pues, si bien se ha considerado que pueden intervenir disminuyendo la gravedad del cuadro y coadyuvando a la recuperación del proceso, también se ha observado que títulos moderados de anticuerpos séricos no evitan la infección ni tampoco la aparición de neumonías.

La respuesta celular se manifiesta por la aparición de un estado de hipersensibilidad retardada, sobre todo después de las infecciones más graves, que se puede demostrar por pruebas diversas.

Mecanismo inmunológico

Además de la acción directa, parece que en la aparición de neumonías y cuadros extrapulmonares intervienen factores dependientes del huésped y en particular de su respuesta inmune.

En investigaciones experimentales se ha observado que la inoculación del hámster por vía intranasal da lugar a la aparición de anticuerpos séricos y de pequeños infiltrados pulmonares por células mononucleares. Si más tarde se practica la reinoculación de los animales infectados, se produce una respuesta precoz y exagerada, que se manifiesta por la aparición de infiltrados pulmonares extensos, los cuales no se producen si se extirpa previamente el timo. Estos hechos señalan la importancia de la respuesta celular y que la aparición de neumonías puede ser debida a mecanismo inmunológico.

En el hombre también parece que los cuadros clínicos más importantes son la consecuencia de reinfecciones. Los estudios serológicos longitudinales han demostrado que la primoinfección en la infancia por lo general es asintomática y produce una respuesta inmune moderada, pero que a intervalos irregulares (2-4 años) pueden ocurrir reinfecciones que inducen una respuesta más intensa, que coinciden muchas veces con manifestaciones clínicas respiratorias, especialmente con neumonías.

Por otra parte, como consecuencia de la infección se puede demostrar en el suero la presencia de anticuerpos, predominantemente de tipo IgM, frente a diversas células y tejidos del huésped. En más del 50 % de casos de neumonía se detectan anticuerpos frente al músculo liso y pulmón, y crioaglutininas frente al antígeno I de los hematíes humanos del grupo O. Asimismo en los enfermos con complicaciones neurológicas se ha observado la presencia de anticuerpos frente al tejido nervioso. Pueden ser debidos a antígenos comunes, de reacción cruzada con otras células y tejidos (glicolípidos), o a modificaciones de los antígenos del huésped como consecuencia de la infección. Aun cuando se puede demostrar su presencia en huéspedes normales, se considera que pueden intervenir en la aparición de las manifestaciones extrapulmonares.

CUADROS CLINICOS

En los animales y aves, la infección por micoplasmas puede manifestarse en forma de síndromes pulmonares, genitales o articulares y en ocasiones sólo por una falta de desarrollo con disminución acentuada de peso, de manera que en los establecimientos de cría intensiva representa pérdidas económicas muy importantes.

En el hombre hay que considerar la infección por *M. pneumoniae* y por los micoplasmas genitales (tabla 50-3):

Mycoplasma pneumoniae

Produce con frecuencia infecciones inaparentes y una gran variedad de cuadros respiratorios, que van desde infecciones leves de las vías respiratorias superiores hasta bronquitis y neumonías de gravedad variable, muchas veces asociadas con afectación de otros órganos o tejidos (sangre, oído, piel, sistema articular y nervioso).

Neumonía atípica

La infección por *M. pneumoniae* es una de las causas más frecuentes de neumonía atípica, que también puede ser producida por virus (adenovirus, *M. influenzae*, virus parainfluenza tipo 3, virus respiratorio sincitial), *Chlamydia psittaci* y *Coxiella burnetii*. Se denomina neumonía atípica porque presenta un cuadro clínico diferente de la típica neumonía lobar bacteriana (*S. pneumoniae*). Su comienzo es gradual, se observa una disociación entre la falta de signos en la exploración física y los hallazgos radiológicos que ponen de relieve la afectación pulmonar, muchas veces asociada con manifestaciones extrapulmonares, no se produce leucocitosis y el tratamiento con penicilina es ineficaz.

Afecta con mayor frecuencia a los escolares y adultos jóvenes y se caracteriza en que, después de un período de incubación prolongado (1-3 semanas), el cuadro se inicia lentamente con fiebre, cefalalgia, malestar, faringitis y tos persistente, a veces con expectoración. El examen radiológico demuestra la afectación de los lóbulos medio e inferior, con un patrón de tipo intersticial o alveolar. La enfermedad es benigna, pero de larga duración (1-4 semanas), y pueden aparecer en su curso manifestaciones extrapulmonares.

Otras infecciones respiratorias

Las infecciones del aparato respiratorio son las más frecuentes y se presentan en forma de faringitis exudativa, bronquitis, cuadros semejantes al síndrome gripal (fiebre, cefalalgia, mialgias y tos) o simplemente formas febriles sin localización (fiebre y cefalalgia). Hay que tener en cuenta que en alguna de estas formas, si se practica un examen radiológico, se detecta una infiltración pulmonar.

Cuadros extrapulmonares

Pueden aparecer aislados o asociados con procesos respiratorios, especialmente con las neumonías, y se consideran producidos por mecanismo inmunológico.

En el oído se producen con cierta frecuencia otitis media o externa, e inflamación del tímpano (miringitis bullosa); en la sangre, anemias hemolíticas, y en la piel, erupciones cutáneas diversas de tipo urticaria, exantemas maculopapulosos o vesiculosos e incluso se han asociado con el eritema multiforme exudativo (síndrome de Stevens-Johnson). En el sistema nervioso se asocian con meningitis, mielitis, encefalitis y el síndrome de Guillain-Barré.

Micoplasmas genitales

Recientemente se ha señalado la asociación de *M. hominis* y *U. urealyticum* con procesos uretrales y genitales diversos:

Uretritis no gonocócicas

Se conoce que más del 50 % de uretritis no gonocócicas son producidas por *Chlamydia trachomatis* y ciertos datos sugieren que en las uretritis no producidas por el gonococo ni por clamidias pueden intervenir micoplasmas, en especial *Ureaplasma urealyticum*. Se ha observado que en algunos de estos casos se aíslan ureaplasmas a título elevado, el tratamiento con antibióticos activos frente a los ureaplasmas mejora el cuadro y, además, por inoculación de voluntarios con cultivos puros se han podido obtener algunos casos de uretritis. Estos datos permiten sugerir que *U. urealyticum* puede ser la causa de cierto número de casos de uretritis no gonocócicas, pero, si se tiene en cuenta que también se encuentra en personas normales, su aislamiento en un caso de uretritis, en ausencia del gonococo, no indica que sea el agente causal.

Afecciones genitales

Se ha señalado la asociación de *M. hominis* con diversos procesos del área genital, sobre todo salpingitis y pelviperitonitis. Aunque estas afecciones están producidas con frecuencia por el gonococo y los casos no gonocócicos tienen una etiología diversa y muchas veces mixta, en el 10 % de salpingitis y de abscesos pelvianos se ha aislado *M. hominis* y en el 56 % se ha podido demostrar por hemaglutinación indirecta un aumento o disminución significativa del título de anticuerpos, lo cual sugiere su intervención en algunos de estos casos. Datos semejantes con aislamiento de *M. hominis* de la sangre, asociado con aumento de anticuerpos, se han observado en el 5-10 % de casos de fiebre posparto y postaborto. Por otra parte, se han aislado micoplasmas genitales en casos de prostatitis crónica, vaginitis, cervicitis, corioamnionitis, abortos espontáneos de repetición, infertilidad y bajo peso al nacimiento, pero su relación causal no ha podido demostrarse.

Afecciones articulares

A semejanza de lo que ocurre con los animales, se ha observado la posible asociación de micoplasmas con enfermedades articulares en el hombre, sobre todo con la artritis reumatoide, sin que se haya podido llegar a resultados significativos.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Se basa en el aislamiento de micoplasmas a partir de los productos del enfermo y en pruebas serológicas, que sólo se practican de ordinario para el diagnóstico de *M. pneumoniae*.

Aislamiento

Se parte de frotis faríngeos, esputos, secreciones uretrales, exudados o sangre, obtenidos en el curso de la enfermedad, aunque *M. pneumoniae* puede persistir en la garganta de 2 a 3 meses después, a pesar de la antibioterapia. Los hisopos deben colocarse en medio de transporte para evitar la desecación y las muestras pueden conservarse durante unos días a + 4 °C, a excepción de *M. hominis*, que es muy sensible y debe procesarse inmediatamente.

La muestra se siembra diluida, para evitar la acción de las sustancias inhibidoras que pueda contener, en un medio adecuado (medio difásico de Chanock, medio E, medio SP-4) con glucosa, arginina y acetato de talio, y a pH 7,5 para el aislamiento de micoplasmas y con urea, sin acetato de talio y a pH 6 (medio de Shepard) para el aislamiento de ureaplasmas. El medio líquido se incuba a 37 °C en aerobiosis y el crecimiento (7-30 días) se demuestra por el cambio de color del indicador de pH. Se resiembra en placas de agar que se incuban en cámara en condiciones de microaerofilia, y se observa a los pocos días la aparición de colonias muy pequeñas (10-100 µm) con el típico aspecto de «huevo frito» (centro más denso y oscuro, incrustado en el agar, y periferia más fina, clara y granulosa), que se observan con lupa binocular (fig. 50-1).

La identificación presuntiva de *M. pneumoniae* (tabla 50-4) se efectúa por su crecimiento lento en aerobiosis, la fermentación de la glucosa y la producción de hemolisina β. *M. hominis* se desarrolla en aerobiosis más rápidamente y forma colonias mayores, que no fermentan la glucosa ni producen hemolisinas, pero descomponen la arginina. *U. urealyticum* en el medio de Shepard forma colonias muy pequeñas, puntiformes, descompone la urea con alcalinización del medio y añadiendo sulfato manganoso las colonias se tiñen de color pardo oscuro.

La identificación definitiva de *M. pneumoniae* se puede efectuar directamente por inmunofluorescencia. Para la diferenciación de las especies de micoplasma se utiliza la prueba de inhibición del crecimiento en presencia de anticuerpos específicos. Es una prueba de neutralización que se practica sembrando en masa una placa con el germen aislado y colocando en la superficie del agar discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antisueros. A los

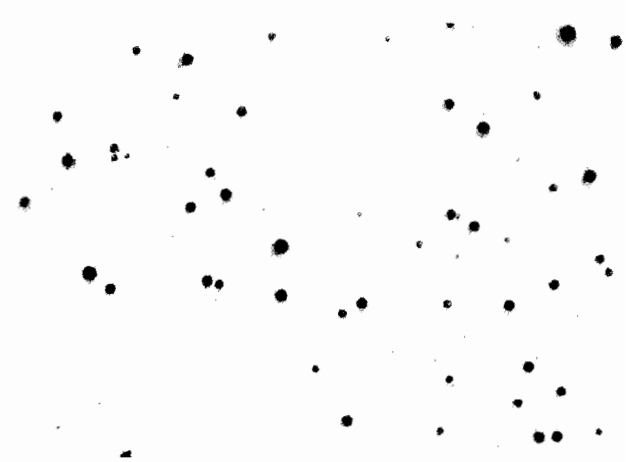


Fig. 50-1. Colonias de *M. pneumoniae* en «huevo frito». Coloración de Dienes.

Tabla 50-4. Clasificación presuntiva de los principales micoplasmas humanos

Especies	Necesidades en esteroles	Fermentación de glucosa	Hidrólisis		Condiciones respiratorias		
			Arginina	Urea	Aerobio	Microaerófilo	Anaerobio
M. pneumoniae	+	+	−	−	+++	+	±
M. hominis	+	−	+	−	++	++	+++
U. urealyticum	+	−	−	+	+++	+++	+++
M. orale							
M. buccale	+	−	+	−	+	++	+++
M. faucium							
M. salivorium	+	−	+	−	+	+++	+++
M. fermentans	+	+	+	−	?	?	?
A. laidlawii	−	+	−	−	?	?	?

4 días se examina la placa para la demostración de un área de inhibición del crecimiento, alrededor del disco impregnado con el suero específico correspondiente.

Hay que tener en cuenta que el aislamiento de micoplasmas genitales fuera de la sangre tiene poca significación clínica.

Métodos de examen directo

La demostración directa de micoplasmas en las muestras es difícil, ya que no toman el colorante de Gram, se tiñen débilmente por el de Giemsa y sólo pueden observarse por técnicas de campo oscuro y contraste de fases. Sin embargo, se están estudiando métodos de diagnóstico rápido, que permiten demostrar la presencia de micoplasmas en los productos del enfermo, por observación electrónica o mediante reacciones de inmunofluorescencia o de enzimoinmunoanálisis (ELISA).

Serología

Es el método habitual para el diagnóstico de las infecciones por *M. pneumoniae*. Se basa en la demostración de una seroconversión o de un aumento significativo del título de anticuerpos, en dos muestras de suero obtenidas durante la fase aguda de la enfermedad y la convalecencia, mediante pruebas de fijación del complemento, de inhibición de la hemaglutinación o de inmunofluorescencia indirecta. La reacción de fijación del complemento utilizando extractos que contienen el antígeno lipídico es el método más utilizado. Los métodos serológicos para el diagnóstico de las infecciones por *M. hominis* y *U. urealyticum* no han entrado en la práctica debido a su heterogeneidad antigénica.

Las infecciones por *M. pneumoniae* y en particular las neumonías se encuentran asociadas en el 50 % de los casos con la aparición de aglutininas para los hematíes humanos del grupo O a 4 °C (crioaglutininas), y puede demostrarse un aumento del título en el curso de la enfermedad. No es una reacción específica, pues también se produce en otras neumonías víricas, pero en cierto modo es indicativa de una neumonía no bacteriana. Es debida a la aparición de anticuerpos frente al antígeno I de los hematíes humanos, como consecuencia de la existencia de antígenos menores comunes o porque en el curso de la infección se liberaría y modificaría el antígeno I haciéndolo antigénico para el propio organismo.

La presencia de anticuerpos frente a antígenos del corazón en algunos enfermos sería la causa de las reacciones serológicas falsas, que se presentan en la sífilis, cuando se emplean antígenos de cardiolipina.

TRATAMIENTO

Los micoplasmas son resistentes a los antibióticos que actúan sobre la pared celular, como las β-lactaminas; por el contrario, son sensibles a los antibióticos que inhiben la síntesis proteica, sobre todo las tetraciclinas. Además, *M. pneumoniae* es sensible a la eritromicina y los micoplasmas genitales (*M. hominis* y *U. urealyticum*) lo son a la espectinomicina. Si se administran en período precoz, se produce una mejoría clínica progresiva, pero *M. pneumoniae* puede persistir en la faringe durante largo tiempo, a pesar de los antibióticos y anticuerpos. También se ha indicado la administración de tetraciclinas en el tratamiento de las uretritis no gonocócicas, y en este caso hay que tratar a la pareja para evitar las recurrencias.

EPIDEMIOLOGIA

Los micoplasmas respiratorios (*M. salivarium*, *M. ovale*, *M. bucale* y *M. faucium*) se encuentran con cierta frecuencia como comensales en la mucosa orofaríngea del hombre. Por el contrario, *M. pneumoniae* sólo se aísla de la mucosa respiratoria durante un corto período después de infecciones inaparentes o de 1 a 3 meses después de infecciones clínicas, sobre todo de neumonías.

Las infecciones por *M. pneumoniae* presentan una distribución mundial y difunden en forma endémica en la población general durante todo el año, sin predominio estacional. Se considera que su frecuencia es elevada, pero en su mayoría se traducen por infecciones inaparentes y cuadros leves de las vías respiratorias superiores, sobre todo en los niños menores de 5 años, cuadros que por lo general discurren indiagnosticados. Esto hace que las infecciones de las vías respiratorias inferiores, como las bronquitis y neumonías, aparezcan de forma aislada en la población y adopten una difusión de tipo endémico.

Afectan por lo general el medio familiar, donde la infección se introduce por niños de edad escolar y difunde lentamente por contacto y vía aérea debido a su largo período de incubación, con una tasa de ataque que puede ser elevada (50-90 %) y una proporción de neumonías relativamente

baja (3-15 %). Se considera que las neumonías micoplásmicas constituyen alrededor del 20 % de todas las neumonías, del 10-15 % de neumonías de los 5 a 9 años de edad y del 15-45 % en los adultos jóvenes. Posteriormente, su frecuencia disminuye, pero en las edades avanzadas su gravedad es mayor.

En las colectividades infantiles y de adultos jóvenes (campamentos militares, escuelas, residencias, orfelinatos), como consecuencia de su mayor susceptibilidad y de la intimidad y masividad de los contagios, se pueden producir brotes epidémicos, que presentan por lo general una periodicidad de 4 a 6 años.

Los micoplasmas genitales se aíslan en proporción variable del tracto urogenital de personas normales. La colonización se inicia durante el parto por el paso de micoplasmas a partir del canal vaginal. Se encuentran colonizados del 30-35 % de recién nacidos, proporción que disminuye a menos del 10 % a 1 año de edad, cifra que se mantiene durante toda la infancia. Después de la pubertad, la proporción de colonizados aumenta en relación directa con el grado de actividad sexual y condiciones economicosociales, para disminuir después de la menopausia. La existencia de micoplasmas en el tracto urogenital de personas normales ha dificultado el conocimiento de su papel en la producción de diversas enfermedades.

PROFILAXIS

Los primeros ensayos con vacunas inactivadas por formol efectuados en voluntarios y reclutas con una sola dosis demostraron que la eficacia protectora de la vacuna era escasa y, además, en algunos vacunados se desarrollaron neumonías, a diferencia de lo que ocurre en los controles no vacunados. Estos datos ya indicaron que la vacuna era poco inmunógena y podía producir fenómenos de sensibilización y dar lugar a una enfermedad más grave, como ya se había observado con el virus del sarampión y virus RS.

Estudios experimentales posteriores han señalado que la acción protectora depende del número de dosis, de la vía de administración y de la naturaleza del inmunógeno. Las vacunas inactivadas totales contienen pequeñas cantidades de antígenos protectores, y es necesaria la administración de varias dosis para inducir una respuesta protectora adecuada. En estas condiciones, la vacuna inactivada induce la aparición de anticuerpos inhibidores de la actividad metabólica en el 70-80 % de vacunados, con una reducción de la morbilidad del 51 % sin que se modifique el grado de colonización. Aun cuando la proporción de seroconversiones fue elevado, el grado de protección fue mucho menor, a diferencia de lo que ocurre con la infección natural, lo cual indica que, además de los anticuerpos inhibidores de la actividad metabólica inducidos por el antígeno glicolipídico, otros factores desempeñan un papel importante en la protección. Por esto, los estudios se han dirigido a la preparación de vacunas atenuadas y con antígenos purificados.

Se han obtenido cepas atenuadas por pases seriados de *M. pneumoniae* en medios artificiales y mutantes termosensibles, que se han ensayado en pruebas limitadas que se han mostrado prometedoras. Sin embargo, se ha observado que la atenuación disminuye la virulencia y la capacidad inmunógena, de manera que a veces puede resultar insuficiente o quedar cierto grado de virulencia residual.

En la actualidad se está intentando preparar una vacuna con antígenos purificados. A este respecto se han obtenido extractos proteicos, relacionados con la capacidad de fijación y acción patógena (cilioestasis, proteólisis), y se ha preparado una vacuna; se ha observado que la administración de 6 dosis por vía intramuscular asociadas a un adyuvante de alúmina indujo una buena protección. También se han preparado vacunas con polisacáridos purificados, que en los ensayos en animales han dado buenos resultados.

BIBLIOGRAFIA

Barile, M. F.; Razin, S.; Tully, J. G., y Whitcomb, R. F.: The mycoplasmas. Academic Press, New York, 1979.

Brunner, H., y Prescott, B.: Effect of *M. pneumoniae* polysaccharides and glycolipids on prophylaxis of experimental disease. En Robbins, S. B.; Hill, H. C., y Sadoff, J. C. (dirs.): Seminars in infectious disease, vol. IV. Bacterial Vaccines. Thieme-Stratton, New York, 1982.

Chandler, D. K. F., y Barile, M. F.: In vitro activities of *Mycoplasma pneumoniae extract*. En Robbins. J. B.; Hill, J. C., y Sadoff, J. C. (dirs.): Seminars in infections diseases, vol IV. Bacterial vaccines. Thieme-Stratton, New York, 1982.

Mardh, P. A., y Westrom, L.: Tubal and cervical cultures in acute salpingitis with special reference to *Mycoplasma hominis* and T-strains mycoplasmas. Br. J. Vener. Dis., 46, 179-186. 1970.

Mira, J., y Pérez Ramos, S.: Mecanismos de patogenicidad en los micoplasmas. Immunologika, 3, 67, 1982.

Pumarola, A.; Beltrán, M.; Tardío, E., y Cruz, M.: *Mycoplasma pneumoniae* infections. Paediatrician, 8, 56, 1979.

Rodríguez Torres, A.: Las infecciones por micoplasmas en patología humana. Ann. Real Acad. Med. Cir. (Valladolid), 12, 421-437, 1974.

Razin, S.: The Mycoplasmas. Microbiol. Rev., 42, 414-470, 1978.

Tully, J. G.; Taylor-Robinson, D.; Rose, D. L.; Cole, R. M., y Bove, J. M.: *Mycoplasma genitalium*. A new species from the human urogenital tract. Int. J. Sist. Bact., 33, 387, 1983.

Wall, F.; Pfister, R. M., y Somerson, N. L.: Freeze fracture confirmation of the presence of a core in the specialized, structure of M. pneumoniae. J. Bacteriol., 154, 924-929, 1983.

Wallace, R. J.; Alpert, S.; Browne, K.; Lin, J. S. L., y McCormack, W. M.: Isolation of *Mycoplasma hominis* from blood cultures in patients with post-partum fever. Lancet, 2, 1217-1221, 1980.

Wenzel, R. P.; Craven, R. B.; Davies, J. A.; Hendley, J. D.; Hamory, B. H., y Gwaltney, J. M., Jr.: Field trial of an inactivated Mycoplasma pneumoniae vaccine. J. Infect. Dis., 134, 571-576, 1976.

Capítulo 51

Rickettsias

José Angel García-Rodríguez

Constituyen un grupo de bacterias un tanto peculiares con características diferentes de las bacterias hasta ahora estudiadas y que exigen una metodología distinta para su procesamiento. Por otro lado, son los agentes responsables de un grupo de enfermedades endémicas o epidémicas, algunas de gran difusión, generalmente transmitidas por artrópodos y con tendencia a producir cuadros exantemáticos con mayor o menor componente tífico.

Las rickettsias precisan células vivas para desarrollarse, lo que ha comportado un confusionismo taxonómico hasta hace poco en que se consideraba que estaban emparentadas con los virus. Hoy, este aspecto está totalmente descartado debido a que se conoce que poseen simultáneamente ADN y ARN, se dividen por fisión binaria, su pared es típica de las bacterias gramnegativas, son sensibles a agentes antibacterianos y tienen una dotación enzimática propia, que, aunque escasa, desarrolla funciones múltiples.

Son, pues, verdaderas bacterias, aunque adaptadas a un parasitismo celular estricto, circunstancia que les permite obtener la energía necesaria de la célula parasitada. Esto prácticamente explica por qué estos microorganismos no están dotados (porque no lo precisan) de complicados sistemas enzimáticos, y la gran permeabilidad de su membrana citoplásmica será la base de sus peculiaridades ecológicas y epidemiológicas.

Se diferencian, no obstante, de otros parásitos celulares opcionales, como micobacterias, brucelas, etc., en que pueden infectar no sólo células fagocitarias, sino otros muchos tipos. Se rodean, además, de una cubierta que las protege de la degradación lisosómica y tienen un ciclo simple de división que las diferencia de las clamidias.

El primer agente causal fue descrito en 1905, a partir de sangre de animales afectos de fiebre de las Montañas Rocosas. El hallazgo del piojo como vector se debe a Ricketts y Wilder, que unos años más tarde hallan rickettsias en el intestino de piojos parásitos de enfermos afectos de tifus exantemático; más tarde, Von Prowazeck aísla estos mismos microorganismos a partir de sangre, de ahí el nombre propuesto de *Rickettsia prowazekii*, como agente del tifus exantemático epidémico.

En 1916, Da Rocha Lima propone la creación del género *Rickettsia*. Se suceden a partir de entonces descubrimientos de nuevas especies como *Rickettsia quintana* (actualmente *Rochalimaea quintana*), en enfermos de fiebres de las trincheras; *R. rickettsii*, agente de las fiebres manchadas de las Montañas Rocosas; *R. typhi* (antes *R. mooseri*), agente productor del tifus endémico, y *R. conarii*, agente de la fiebre botonosa mediterránea. Más recientemente se aíslan *Coxiella burnetii* y *R. akari*, responsables, respectivamente, de la fiebre Q y del tifus vesicular.

TAXONOMIA

En el *Manual de Bergey*, las rickettsias se incluyen en la sección 9 que comprende dos órdenes: *Rickettsiales* y *Chlamydiales*.

El orden *Rickettsiales* engloba tres familias:

Familia I: *Rickettsiaceae*.
Familia II: *Bartonellaceae*.
Familia III: *Anaplasmataceae*.

Familia I: Rickettsiaceae

En la familia *Rickettsiaceae* se estudian las tribus *Rickettsiae*, *Erlichieae* y *Wolbachieae*. La primera de ellas es indudablemente la de mayor importancia médica.

Tribu Rickettsieae. Se separan a su vez en ella tres géneros:

1. Género *Rickettsia*. Se trata de cocos o cocobacilos, parásitos celulares obligados. Crecen sin formar vacuolas en el citoplasma celular de ciertos vertebrados y artrópodos. Se inactivan rápidamente a 56 °C.

2. Género *Rochalimaea*. Las especies de este género pueden multiplicarse en el artrópodo vector en ambiente extracelular y, además, cultivarse en ciertos medios bacteriológicos.

3. Género *Coxiella*. Sus especies se desarrollan formando vacuolas en la célula huésped y son microorganismos que

presentan en ambiente extracelular una considerable resistencia a diferentes agentes físicos y químicos.

Los microorganismos de la tribu *Rickettsieae* presentan con alguna excepción (género *Coxiella*) las siguientes características comunes destacables:

1. Son pequeños cocobacilos o cocos, que se colorean por tinciones vitales (en rojo por la técnica de Giménez); producen una lesión típica, la vasculitis periférica, que se traduce clínicamente por estado tifoso y exantema, debido a que la vasculitis se localiza preferentemente a nivel cerebral y cutáneo.
2. Son sensibles a los antibióticos denominados de amplio espectro, y desde el punto de vista epidemiológico se trata de agentes transmitidos por artrópodos (piojos, pulgas, ácaros y garrapatas).

MORFOLOGIA

En el medio extracelular son extremadamente sensibles, lo que explica las características de transmisión. Incluso intracelularmente son muy lábiles a la acción de los antisépticos habituales, radiaciones ultravioleta, temperatura, etc., con una excepción, *Coxiella*, que es considerablemente más resistente que las demás rickettsias.

En materia orgánica desecada resisten bastante bien y su conservación en el laboratorio se logra en leche desgrasada a –70 °C o por liofilización.

ESTRUCTURA ANTIGENICA Y CLASIFICACION

Por dificultades técnicas obvias de purificación no se conoce bien la relación entre los diferentes antígenos y la estructura. Pero por extracción con éter se han logrado diferenciar 2 tipos de antígenos:

1. Uno, grupoespecífico, soluble, que se secreta al exterior y permite mediante la reacción de fijación del complemento la separación en 4 grupos, designados con números romanos:

I : *R. prowazekii* y *R. typhi*.
II : *R. rickettsii*, *R. conorii* y *R. akari*.
III: *R. tsutsugamushi*.
IV: *Coxiella*.

2. Otro, tipoespecífico, insoluble, que facilita la separación en especies y cepas.

Los anticuerpos inducidos por estos antígenos, se pueden demostrar por aglutinación, neutralización, test de protección e inmunofluorescencia.

El hecho de que el suero de los enfermos de rickettsiosis aglutinen con el antígeno O de ciertas especies de *Proteus* ha permitido el desarrollo de una prueba diagnóstica de amplio uso. Esta reacción, llamada de Weil-Felix, ayuda a diferenciar algunas rickettsias sobre la base de la comunidad antigénica con las cepas de *Proteus* OX_{19}, OX_2 y OXK (tabla 51-1).

El problema de esta prueba radica en su interpretación, ya que el suero de muchas personas da títulos, aunque bajos, debido a la ubicuidad de los *Proteus* y a la frecuencia con que produce infecciones (p. ej., urinarias).

Tabla 51-1. Presencia de Ac frente a Proteus en enfermos de diversas rickettsiosis

	OX_{19}	OX_2	OXK
R. prowazekii	+++	+	–
R. typhi	+++	+	–
R. rickettsii	+++	+++	–
R. conorii	+++	+++	–
R. akari	–	–	–
R. tsutsugamushi	–	–	+++

Atendiendo a las características señaladas, a las que se suman otras, como la localización intracelular (en citoplasma o núcleo), el tipo de crecimiento en embrión de pollo y en cultivos monocapa, la capacidad patógena para el cobayo y el ratón, y las propiedades antigénicas, se han separado los siguientes géneros:

Género Rickettsia:

1. Biotipos del grupo tifus:

N.º 1: *R. prowazekii* (con una variante de escasa virulencia que es la cepa, Madrid E).
N.º 2: *R. typhi*.
N.º 3: *R. canada*, que comparte propiedades de este grupo y del de las fiebres manchadas.

2. Biotipos del grupo de las fiebres manchadas:

N.º 4: *R. rickettsii*.
N.º 5: *R. sibirica*.
N.º 6: *R. conorii*.
N.º 7: *R. australis*.
N.º 8: *R. akari*.

3. Otras rickettsias del grupo de las fiebres manchadas patógenas para animales son:

N.º 9: *R. parkeri*.
N.º 10: *R. montana*, cepa U del oeste de Montana y las cepas JC-880 y TT-118 aisladas de Pakistán y Tailandia, respectivamente. Otras cepas recientemente aisladas están sometidas a estudio para comprobar si se trata de nuevas especies.

4. Biotipos del grupo tifus «scrub» (fiebre de las malezas):

N.º 11: *R. tsutsugamushi*.

Género Rochalimaea. Con la especie *Rochalimaea quintana*.

Género Coxiella. Con la especie *Coxiella burnetii*.

Cada una de las especies descritas o relacionadas tiene un solo inmunotipo excepto *R. tsutsugamushi* que tiene 8, *Rochalimaea quintana* (no se conoce) y *Coxiella burnetii* (2 fases). Inmunológicamente, el grupo de las fiebres manchadas se puede subdividir en 5 subgrupos: A (*R. canada*, *R. rickettsii*, *R. sibirica*), B (*R. conorii*, *R. parkeri*), C (*R. akari*, *R. australis*), D (*R. montana*, cepa U) y E (JC-880; TT-118).

Desde un punto epidemiológico y atendiendo al agente vector se pueden dividir en:

1. Agentes transmitidos por piojos.

a) *R. prowazekii* (tifus exantemático epidémico y enfermedad de Brill-Zinser).
b) *Rochalimaea quintana* (fiebre de las trincheras).

2. Agentes transmitidos por pulgas.

a) *R. typhi* (tifus murino o tabardillo mejicano).

3. Agentes transmitidos por garrapatas.

a) *R. rickettsii* (fiebres manchadas de las Montañas Rocosas).
b) *R. conorii* (fiebre botonosa mediterránea).

4. Agentes transmitidos por ácaros.

a) *R. tsutsugamushi* (tifus de los matorrales).
b) *R. akari* (tifus pustuloso).

5. Que no necesita un agente vector.

a) *Coxiella burnetii* (fiebre Q).

ACCION PATOGENA

Determinantes de patogenicidad

A pesar de que los procesos que originan en su forma típica florida son bien conocidos, se sabe relativamente poco de los determinantes de patogenicidad.

Sólo las formas viables son capaces de penetrar en las células. La adsorción se bloquea impidiendo la infección mediante disolventes e inhibidores del colesterol, lo que hace suponer que ésta sea la naturaleza de los receptores celulares.

La multiplicación de las rickettsias al principio es lenta y el daño tisular, inapreciable, lo que contrasta con el resultado final, que es la lisis celular. Al producirse ésta, se liberan las rickettsias, que actúan a nivel local (proliferación endotelial con obstrucción vascular y posible necrosis de tejidos) y general (sólo explicable por una posible toxina).

La producción de toxina es hipotética, pero es indudable el efecto tóxico observado tras la inoculación intravenosa al ratón de un inóculo concentrado de rickettsias, que conduce a la muerte en 2 a 8 horas. El carácter tóxico puede explicarse por la rapidez con que muere el animal, la reducción de la infectividad, pero no de la toxicidad, cuando se aplican radiaciones UV, y el hecho evidente de que el uso de antimicrobianos no previene la muerte rápida, pero sí el antisuero específico frente al antígeno parietal.

Se trataría, pues, de una endotoxina activa en células endoteliales, lo que predispone al shock por pérdida de plasma y descenso del volumen sanguíneo. Esta endotoxina no se potencia con la adrenalina, por lo que debe ser esencialmente distinta de la endotoxina de las enterobacterias, en las que sí se observa este fenómeno.

Se ha especulado también sobre la producción de una hemolisina, debido a que altos inóculos de rickettsias son capaces de producir en conejos hemólisis intravascular masiva. También *in vitro* pueden hemolizar los eritrocitos de carnero y de conejo, aunque no los del hombre, razón por la que se desconoce el papel patógeno de esta posible hemolisina en la enfermedad humana.

Patogenia

La puerta de entrada es siempre (con la única posible excepción de *Coxiella*) la piel a través de su efracción por picadura de un artrópodo vector. Se discute si las rickettsias son capaces de multiplicarse en la puerta de entrada o si se diseminan directamente, con un especial tropismo por las células endoteliales de los pequeños capilares. A consecuencia de la infección, las células endoteliales aumentan de tamaño y se dividen. Esta hiperplasia origina una obstrucción de la corriente sanguínea con extravasación de eritrocitos a zonas vecinas. En torno a los segmentos capilares afectados por la angeítis, se acumulan células inflamatorias, lo que da lugar a un manguito inflamatorio perivascular (nódulo de Fraenkel), típico de las rickettsiosis.

También los macrófagos vecinos intervienen en alguna forma, pues se ha demostrado en su interior la presencia de rickettsias.

La mayor afectación de capilares en la piel, cerebro y miocardio explica las características clínicas de estos procesos, en los que el rash petequial, el sopor («atufamiento») y el shock, cuando existe, son los aspectos más llamativos, unidos a la fiebre como signo infeccioso (fig. 51-1).

Cuadros clínicos

Tifus exantemático epidémico

Es producido por *R. prowazekii*, estrechamente relacionada antigénicamente con *R. typhi*.

La puerta de entrada se localiza en las excoriaciones cutáneas por el rascado provocado por la picadura del piojo, que deposita en las inmediaciones sus heces contaminadas. La infección por inhalación o por vía conjuntival, aunque posible, es casi exclusiva del laboratorio.

Los nódulos de Fraenkel afectan capilares, arteriolas y vénulas, sobre todo de piel, corazón, SNC, músculos y riñones. La obstrucción puede ser tan extensa que condicionaría, incluso, una gangrena de extremidades.

Tras el período de incubación de 5 a 23 días (con una media de 7 a 10 días), el comienzo es brusco, con escalofríos, fiebre de 39-40 °C, cefalea y mialgias generalizadas. En el período de estado, estas manifestaciones se mantienen, y se añaden la conjuntivitis con fotofobia y la postración del enfermo.

Destaca el rash que se inicia en el tórax y se extiende rápidamente por toda la superficie corporal, respetando la cara, las palmas de las manos y las plantas de los pies. Al principio son máculas rosadas, no confluentes, que se vuelven luego maculopapulosas, petequiales y que no desaparecen a la vitropresión. También llama la atención un cuadro de meningoencefalitis dominante al final de la primera se-

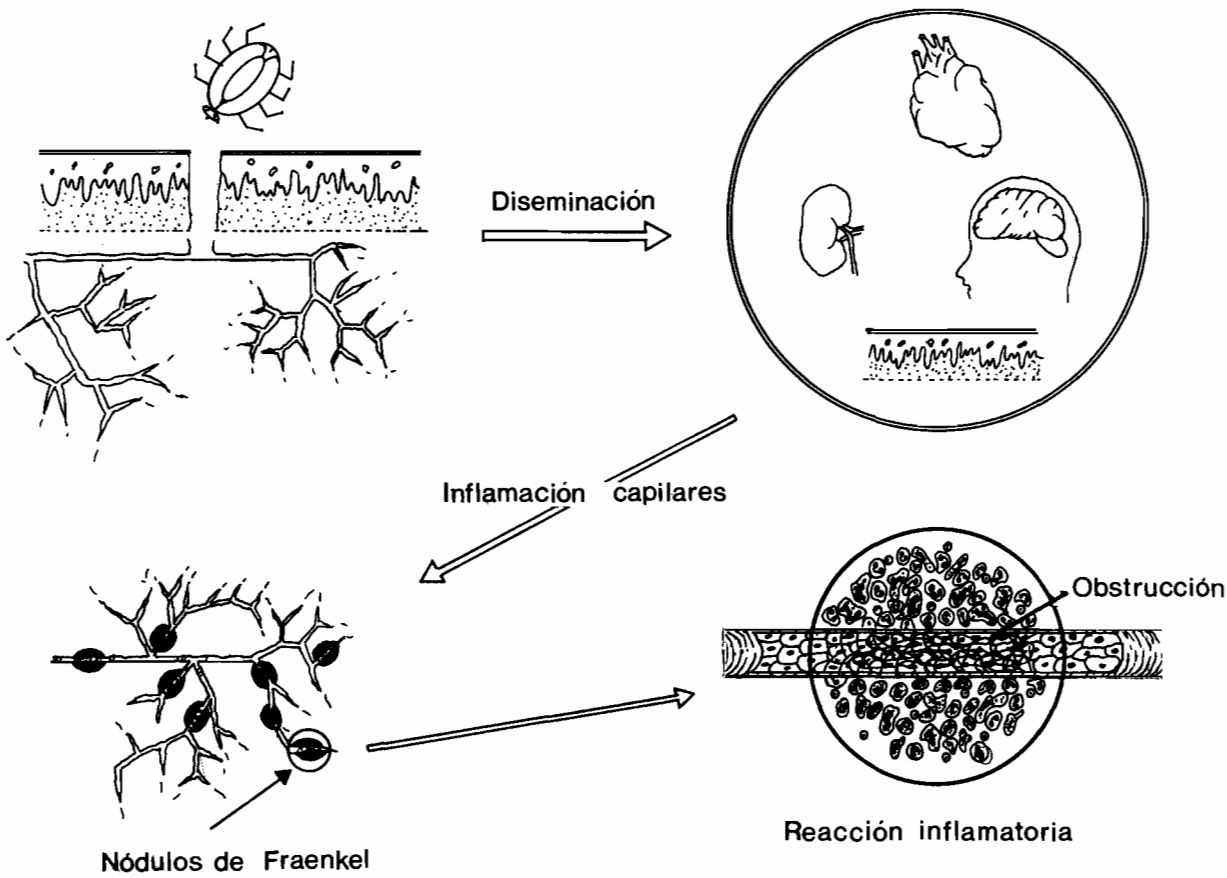


Fig. 51-1. Patogenia de las rickettsiosis.

mana, con manifestaciones que incluyen meningismos, hiperestesias, psicosis y signos de Kernig y Brudzinski positivos. Otros signos y síntomas son muy variables y muchos de ellos dependen de la existencia de complicaciones, como, por ejemplo, gangrena, hipotensión, insuficiencia renal o incluso muerte, que suele deberse a colapso vascular periférico o complicaciones neumónicas.

Al cabo de 12-15 días sin tratamiento, si no hay complicaciones, la recuperación de la temperatura normal y la desaparición del rash y de la sintomatología nerviosa se producen rápidamente, pero no así la postración, apatía, etc., que pueden alargarse y exigen una convalecencia de 2-3 meses.

Enfermedad de Brill-Zinser

Fue descrita por estos autores en emigrantes europeos en Estados Unidos, que habían padecido el tifus exantemático en su punto de origen y que, al cabo de 4 a 40 años después de resuelto, presentaron una enfermedad similar al tifus exantemático epidémico, pero más leve. Se trataba de una recaída de la misma enfermedad.

Tifus endémico (murino)

Se transmite al hombre mediante la picadura de la pulga y posiblemente por ácaros y garrapatas. Es producido por *R. typhi*, patogénicamente indistinguible de *R. prowazekii*, aunque algunos autores señalan que la toxina es menos potente, lo que explicaría la acción general menos grave.

El período de incubación es más corto y varía de 4 a 15 días; el comienzo es también brusco, pero su curso es más gradual. La fiebre es más irregular y en general el cuadro es mejor tolerado; las complicaciones son raras. No se han descrito recaídas.

Fiebres manchadas

De ellas, la más importante es la denominada «fiebre manchada de las Montañas Rocosas», transmitida por varias especies de garrapatas y producida por *R. rickettsii*. Se caracteriza por fiebre, rash cutáneo, mialgias y postración.

Su importancia es, sin embargo, relativa en España, donde la rickettsia más extendida es *R. conorii*, agente causal de la fiebre botonosa o exantemática mediterránea. Es transmitida por garrapatas (la del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, es la más frecuente), que se infectan hereditariamente. Una característica clínica importante para el diagnóstico es la «mancha negra» que aparece en el punto de la picadura.

Aunque la patogenia sea idéntica a la citada anteriormente, en esta enfermedad, las lesiones necrosantes capilares son más leves y raras que en las demás rickettsiosis. Clínicamente se diferencia en que su período de incubación es corto (varía de 3 a 6 días) y son más frecuentes las conjuntivitis y las artralgias; el rash aparece entre el 2.º y 5.º día de

la fiebre y se caracteriza en que las maculopápulas son de tamaño muy pequeño y suelen comenzar por las extremidades y extenderse luego por todo el cuerpo sin respetar ningún área cutánea. La lesión primaria es la «escara negra» de forma y tamaño variables, que va acompañada de linfadenopatía regional. Las complicaciones son raras y aparecen fundamentalmente en ancianos.

«Rickettsialpox» o tifus pustuloso

Es otro tipo de proceso fébril producido por *R. akari* y que se transmite por ácaros. Las características patogénicas e histopatológicas son prácticamente idénticas a las demás rickettsiosis, pero se caracteriza en que la erupción cutánea es pápulo-vesiculosa. Sólo en este proceso aparecen vesículas rellenas de líquido. El enfermo, que no es fuente de contagio directo, cura sin secuelas en 10-14 días, aunque el período de convalecencia puede alargarse algo más.

Fiebre de las malezas («scrub tifus»)

Está producida por *R. tsutsugamushi* y es una enfermedad exótica transmitida por ácaros. En el punto de inoculación, puerta de entrada, se produce una primera multiplicación de *R. tsutsugamushi*, que se traduce por una lesión local en forma de vesícula múltiple que pasa a escara, acompañada de linfadenopatía regional. El resto de los datos clínicos suelen ser los característicos de las rickettsiosis, y destacan únicamente el largo período de incubación y la lentitud del pulso en relación con la fiebre alta. La convalecencia suele ser prolongada.

Fiebre de las trincheras

También se denomina fiebre de Wolhynia (localidad polaca en la que se describió una epidemia). Está originada por *Rochalimaea quintana* y transmitida por piojos, y es una enfermedad febril indistinguible clínicamente de otras rickettsiosis.

Fiebre Q (de «Query» = interrogante)

Está producida por *Coxiella burnetii* y constituye una excepción no sólo clínica, sino también patogénica. La puerta de entrada puede ser muy variable y, aunque pueden intervenir artrópodos vectores, la vía respiratoria (inhalación) es la más frecuente. Si bien los casos graves no son frecuentes, cuando sobreviene algún caso de muerte, ésta suele deberse a una neumonía similar a un proceso por virus o clamidias. La hepatitis y la endocarditis son otros componentes dominantes en los casos graves de fiebre Q. Puede manifestarse de dos formas:

Forma aguda. Clínicamente y tras un período de incubación de unos 20 días, comienza de forma insidiosa y más rara vez bruscamente.

La fiebre persistente o recurrente es a veces el único síntoma, pero en ocasiones va acompañada de síntomas que semejan un cuadro gripal. Puede aparecer tos no productiva con dolor torácico. Aunque se ha estado considerando como una infección pulmonar, realmente se trata de una infección sistémica con ligera afectación del parénquima pulmonar, como revelan las imágenes de pulmón a rayos X. Es frecuente que se asocie una hepatitis. La fiebre dura 10-12 días y la convalecencia es larga. La mortalidad es muy baja, incluso sin tratamiento.

Forma crónica. Puede aparecer meses o años después del proceso agudo y se manifiesta fundamentalmente por una endocarditis subaguda, que afecta de ordinario la válvula aórtica. No es raro que estos pacientes tengan antecedentes de reumatismo, alteraciones valvulares, etc.

DIAGNOSTICO

La rickettsemia se mantiene durante el período febril, por lo que la sangre es el producto patológico de elección para efectuar el diagnóstico microbiológico. En el hombre enfermo es conveniente tomar 2 muestras. La primera para diagnóstico directo se hepariniza o desfibrina y se centrifuga, pues el número de rickettsias suele ser escaso, y, además, se eliminan los anticuerpos inhibidores presentes en el suero. De la segunda se extrae el suero para diagnóstico indirecto.

Directo

El sedimento de la primera muestra:

1. Se somete a tinción directa e inmunofluorescencia, aunque prácticamente carecen de valor por el escaso número de rickettsias.
2. Se tritura, se prepara una suspensión en *brain-heart infusion broth* (caldo-infusión de cerebro-corazón) y se inocula en medio de cultivo celular, huevo embrionado o animal de laboratorio para aislamiento.

La observación de la morfología se realiza con preferencia en las células endoteliales parasitadas o en los cultivos celulares. Se localizan las rickettsias en el citoplasma, si bien las productoras de las llamadas fiebres manchadas pueden también observarse en el núcleo.

Son microorganismos que muestran un alto grado de pleomorfismo, aunque la tendencia más habitual es presentarse como pequeños cocobacilos, de 0,3 a 0,6 µm de anchura por 0,8-2 µm de longitud. Aparecen aislados o en parejas, pero generalmente se agrupan en densas masas intracitoplásmicas.

Se tiñen por diversos métodos vitales, como el de Giemsa, el de Machiavello o, preferentemente, el de Giménez. Esta última técnica, modificación de la de Machiavello, consiste en la tinción con fucsina básica en etanol como colorante principal y verde malaquita oxalatado como colorante de contraste. Las rickettsias se tiñen en rojo y resaltan sobre el resto de la preparación de color verdoso.

Por el método de Gram, aparecen como cocobacilos gramnegativos, con cierta coloración bipolar en las formas bacilares. *Coxiella burnetii* se comporta como grampositiva.

De todas formas, el mejor método de estudio es el microscopio electrónico, que muestra estructuras similares a las de las bacterias gramnegativas, con la membrana citoplásmica y la pared celular trilaminadas. Son bacterias no

Tabla 51-2. Inoculación experimental de las Rickettsias

	Animal de experimentación	Manifestación clínica	Mortalidad	Tejidos afectados (para aislamiento)
R. prowazekii	Cobayo	Fiebre	–	Bazo Cerebro
R. typhi	Cobayo	Fiebre, eritema, edema escrotal	–	Bazo, *tunica vaginalis*
R. rickettsii	Cobayo	Fiebre, eritema, hemorragia, necrosis, edema escrotal	+++	Bazo, sangre, *tunica vaginalis*
R. conorii	Cobayo	Fiebre, eritema, edema escrotal	±	Bazo, *tunica vaginalis*
R. akari	Cobayo	Fiebre, eritema, edema escrotal	±	Bazo, *tunica vaginalis*
R. tsutsugamushi	Ratón	Piel áspera, ascitis	++	Bazo
C. burnetii	Cobayo	Fiebre	±	Bazo

capsuladas (*R. prowazekii* se puede ver rodeada de una «pseudocápsula», que no es más que una capa mucosa más evidente que en el resto de las especies).

Poseen ADN y ARN con un porcentaje de G + C muy distante entre los diferentes grupos, pero muy similar entre las especies del mismo grupo. El estudio de la composición de ácidos grasos por cromatografía ofrece una similitud cualitativa en todas las rickettsias, excepto en *Coxiella burnetii*, que se diferencia significativamente y, además, es similar a algunas especies de *Legionella*.

Aislamiento

Por ser parásitos celulares obligados sólo crecen en el saco vitelino de embrión de pollo o bien en cultivos celulares del tipo de linfoblastos de ratón. El crecimiento óptimo se realiza en células bien desarrolladas, que no se encuentren en fase de división. Se multiplican dentro de pequeñas vesículas citoplásmicas, donde quedan al abrigo de la degradación lisosómica. Por liberación de las vesículas o lisis celular, las rickettsias quedan libres para parasitar nuevas células vecinas.

R. quintana es capaz de desarrollarse en medios enriquecidos con sangre o suero, e incubados en aerobiosis, pero con CO_2. Las colonias visibles a 10-20 aumentos aparecen al cabo de 12-14 días de incubación a 37 °C.

La inoculación de cultivos en monocapa de células de embrión de pollo y la de cultivos de monocitos circulantes permiten el aislamiento e identificación rápida de las diferentes especies (en 2-5 días). Ambos métodos están en estudio y los resultados, si bien son esperanzadores, no permiten sacar conclusiones definitivas; por tanto, es necesario recurrir a los clásicos animales de experimentación, que, en el caso de las rickettsiosis, los de elección son el cobayo macho, adulto, de 250-300 g de peso, y el ratón blanco adulto, a los que se inocula la sangre por vía intraperitoneal y en los que las manifestaciones y características clínicas permiten establecer un diagnóstico de presunción y efectuar el posterior aislamiento (tabla 51-2).

R. quintana se puede aislar a partir de piojos o en medio de cultivo artificial, donde tarda en crecer 12-14 días. Los subcultivos se hacen positivos en 3-5 días.

En huevos embrionados, el aislamiento es tedioso y difícil, pero puede ser necesario para el aislamiento a partir del animal inoculado o la obtención de suspensiones antigénicas. En este caso se procede a la inoculación en saco vitelino de huevos embrionados de 5-7 días.

La identificación se realiza, por tanto, a partir de productos patológicos obtenidos de la autopsia de los animales inoculados. A partir del bazo, *tunica vaginalis* del testículo en el cobayo o peritoneo del ratón se efectúan extensiones con la técnica de Machiavello o la de Giménez. A veces, las rickettsias son tan escasas que no se detectan bien, y es necesario el enriquecimiento que se logra por varios pases en animales. La inmunofluorescencia directa puede ser muy útil, pero hay que tener en cuenta que da especificidad de grupo.

En la autopsia de cadáveres humanos puede partirse de un órgano, preferentemente bazo, para extensiones, tinciones y cultivo; en este caso, para evitar la contaminación, debe tratarse el producto con penicilina o estreptomicina.

Indirecto

Con una parte del suero se realizan y se anotan los resultados, y se congela el resto a –20 °C por si se necesita hacer más pruebas. Más tarde, o en la convalecencia, se efectúa otra determinación con el objetivo de buscar un incremento significativo en el título de anticuerpos en el curso de la enfermedad o de la convalecencia, o de ambas. El tiempo de aparición de los anticuerpos es variable y depende del agente causal y del tipo de anticuerpos buscados, aspecto que se tendrá en cuenta para valorar la seroconversión (tabla 51-3).

Hay algunas pruebas usadas en el pasado y que en la actualidad se intentan perfeccionar y otras en estudio que por diversas circunstancias son poco utilizadas. Nos referimos concretamente al test de sensibilización a la antiglobulina

Tabla 51-3. Tiempo mínimo de aparición de anticuerpos detectables

Agente	Aglutinación	RFC	RWF*
R. prowazekii *R. typhi*	5 días	7 días	7 días
Rickettsias de fiebres manchadas	?	8 días	5 días
Coxiella burnetii	5 días	8 días	–

Datos tomado de Ormsbee, R. A.: Lennette, 1980.
*Reacción de Weil-Felix.

para la fiebre Q, test de neutralización y de neutralización de la toxina, y test de hemaglutinación indirecta. Entre las pruebas más utilizadas tenemos:

Reacción de inmunofluorescencia indirecta

Tiene el inconveniente de ser grupoespecífica, excepto para *R. tsutsugamushi*. En este último caso, cuando existe enfermedad, es positiva a títulos de 1/40. En cualquier circunstancia, sólo se tendrá en cuenta el incremento del título en 8 ó más veces.

Reacción de aglutinación

Intentada con cierto éxito por un tiempo, se ha descartado por la dificultad de obtener buenas concentraciones de antígeno. Sin embargo, es útil la técnica de microaglutinación en tubo capilar con antígeno de *C. burnetii* teñido con hematoxilina (la microaglutinación en porta es difícil de interpretar). La mezcla con el suero problema se incuba y después se centrifuga. El test se interpreta observando el «botón» del sedimento al ser resuspendido. Actualmente, este test se ha adaptado también para *R. prowazekii*, *R. rickettsii* y *R. typhi*.

Reacción de fijación del complemento

Se ha usado y se usa ampliamente, tanto en el diagnóstico humano como en epidemiología. Los inmunosueros tipoespecíficos para los controles se obtienen de conejos inoculados con rickettsias, procedentes del saco vitelino del embrión de pollo. Los antígenos grupoespecíficos se obtienen con relativa facilidad, pero no así los tipoespecíficos, que sólo se detectan tras complejas y delicadas técnicas de centrifugación, diferentes absorciones, precipitaciones, etc. El diagnóstico de la enfermedad se establece de acuerdo con el incremento en el título de la reacción de fijación del complemento al menos de 4 veces (que suele surgir en el período de convalecencia).

Reacción de Weil-Felix

Se considera significativa con un incremento en el título de al menos 4 veces.

TRATAMIENTO ETIOLOGICO

Sin tratamiento, la mortalidad es muy variada, pero en algunas rickettsiosis, como en la fiebre de las Montañas Rocosas, puede ser muy elevada (hasta el 20-30 %). Hacia los años 40, el PABA hizo descender considerablemente la mortalidad, pero el mayor éxito se ha logrado con el tratamiento mediante las tetraciclinas o el cloranfenicol. La administración de 1,5 a 2 g diarios elimina la sintomatología en 24-48 horas. En algunos casos, sobre todo si el tratamiento no es precoz, se aprecian recaídas que tratadas de la misma forma se curan con éxito. La fiebre Q, sin embargo, no responde tan bien a este tratamiento. Se han ensayado en algunos casos eritromicina, espiramicina, cotrimoxazol y rifampicina, pero la experiencia es todavía escasa. Un problema especial plantea la endocarditis en la fiebre Q, que puede exigir meses de tratamiento con tetraciclina o lincomicina, o ambas.

ESQUEMA DE EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Salvo el tifus exantemático epidémico, que en un momento determinado puede extenderse a cualquier punto del mundo, las demás rickettsiosis tienen una localización geográfica bastante delimitada y aparecen de forma endémica preferentemente. En Europa, se pueden aislar *R. conorii*, *R. akari*, *Rochalimaea quintana* y *Coxiella burnetii*. En nuestro país es endémica la fiebre botonosa o exantemática mediterránea (*R. conorii*), enfermedad fundamentalmente estacional que aparece en primavera y verano.

Reservorio

En el tifus exantemático epidémico y en la fiebre de las trincheras, el reservorio es el hombre enfermo, sobre todo durante la fase febril que suele coincidir con la rickettsiemia. En las demás rickettsiosis, los reservorios, además del hombre enfermo, pueden ser muy variados: la rata negra y rata gris (*R. typhi*), el perro (*R. conorii*), los roedores salvajes, los conejos e incluso los propios artrópodos vectores. Las garrapatas pueden transmitir a su herencia el agente causal (*R. rickettsii*). El ratón doméstico y el ácaro transmisor son reservorios de *R. akari*; los roedores y el ácaro transmisor pueden ser fuente de infección de *R. tsutsugamushi*, y animales de abasto, aves, otros animales domésticos y salvajes, garrapatas, etc. pueden serlo de *Coxiella burnetii*. Los estados interepidémicos se explican por el conocimiento de la enfermedad de Brill-Zinser, la afectación de animales salvajes y los propios vectores, que como reservorios mantienen las rickettsiosis indefinidamente.

Mecanismos de transmisión

Las peculiaridades señaladas a lo largo del tema exigen que las rickettsias se transmitan de un huésped a otro a través de mecanismos que, como los artrópodos, las colocan al abrigo de cualquier agente externo que pueda inactivarlas. Por esto, con la excepción de *Coxiella burnetii*, de mayor resistencia y estabilidad en medio ambiente y que se puede transmitir por numerosos mecanismos, las demás rickettsiosis precisan un artrópodo vector, en el que se multiplican activamente. Actúa como reservorio, pues en general es capaz de mantener las rickettsias en su organismo durante todo su ciclo vital y transmitirlas a sus descendientes por vía transovárica y, además, a animales superiores huéspedes y al hombre, causándole enfermedad.

Los tipos de vectores son los siguientes:

1. El piojo transmite (*pediculus humanus*) *R. prowazekii* (*R. typhi* entre hombre enfermo y sano), mediante las heces que contaminan la picadura y las erosiones del rascado. En 1 a 3 semanas, el piojo muere por la enfermedad que él padece, por lo que su actuación como reservorio es muy limitada.

2. Las pulgas (*Xenopsylla cheopis*) transmiten *R. typhi* entre ratas y de las ratas al hombre; también de hombre enfermo a sano puede actuar la pulga común (*Pulex irritans*).

3. Las garrapatas y ácaros, reservorios y agentes vectores más importantes, son: *Rhipicephalus sanguineus* o garrapata del perro (vector más importante de *R. conorii* en nuestro país), *Ornithodoros*, *Dermacentor* y *Amblyomma*, y, entre los ácaros, *Allodermanyssus* y *Leptotrombidium*.

Población susceptible

La población susceptible de enfermar está condicionada por factores geográficos, profesión (trabajos que se desarrollan en el campo y zonas rurales) y excursiones campestres; el caso del tifus exantemático epidémico suele estar ligado a guerras, catástrofes naturales, hacinamiento, promiscuidad y miseria, que facilitan el empiojamiento en definitiva.

PROFILAXIS

En el hombre enfermo se procede al aislamiento, tratamiento eficaz y declaración obligatoria. Frente a los roedores, las prácticas de desratización activa y pasiva son útiles, a pesar de que, frente al reservorio salvaje, ácaros y garrapatas, es muy difícil tomar medidas eficaces.

Sobre el mecanismo de transmisión, los insecticidas y el saneamiento son de utilidad, hasta el punto de que en ocasiones es la única forma de romper la cadena epidemiológica.

Sobre la población susceptible se ensayan en la actualidad varias vacunas: con *R. prowazekii* se han preparado varios tipos de vacunas muertas por el formol, que se obtienen de huevo embrionado o de pulmón de conejos inoculados. Se deben administrar 2 ó 3 dosis, separadas por intervalos de 2-3 semanas, y recuerdos anuales, porque dejan una inmunidad poco duradera. Una vacuna viva atenuada se ha preparado con la cepa E (de España) por Clavero y Pérez Gallardo (1943) y se ha utilizado en Sudamérica. Aunque dé algunas reacciones, es activa a pequeñas concentraciones y deja una inmunidad de larga duración.

Con *R. rickettsii* se han preparado varias vacunas en Norteamérica, como la vacuna muerta de Spencer y Parker, la de Cox y alguna otra, que han sido retiradas. En la actualidad se ensaya una vacuna a partir de cultivos de tejidos.

Se han ensayado asimismo vacunas muertas o atenuadas con *Coxiella burnetii*, pero con problemas de tolerancia, por lo que se aceptan con cierta precaución.

Otras familias

FAMILIA II: BARTONELLACEAE

Incluye una sola especie patógena para el hombre: *Bartonella bacilliformis*, que es un pequeño cocobacilo, a veces ligeramente incurvado, gramnegativo, con la peculiaridad de parasitar hematíes, en los que se visualiza muy bien por la tinción de Giemsa. Es flagelado en los medios artificiales, enriquecidos con suero y hemoglobina o sangre, donde se cultiva a 28-30 °C.

Los mosquitos del género *Phlebotomus* son los agentes vectores, que transmiten el microorganismo por picadura de hombre enfermo a sano.

Estos microorganismos invaden los eritrocitos y células del endotelio y son también fagocitados por las células del sistema reticuloendotelial. Tras ser destruidas estas células, las formas libres invadirán abundantes eritrocitos, que a su vez son destruidos.

El período de incubación es de 2-3 semanas y produce la llamada enfermedad de Carrion. Se manifiesta de dos formas. La denominada fiebre de Oroya es la forma aguda. Se trata de un cuadro grave con fiebre, mialgias y otros signos y síntomas generales. Destaca la intensa anemia y la alta letalidad que se produce sin tratamiento. El otro cuadro clínico es la verruga peruana. Se trata en realidad de un cuadro cutáneo consecutivo a la fiebre de Oroya en aquellos pacientes que sobreviven, aunque también puede aparecer en enfermos sin sintomatología previa. Estos nódulos o verrugas son más frecuentes en partes expuestas, pero también se ven en mucosas y órganos internos. La forma y tamaño es muy variable, y la tendencia de algunas es hacia la ulceración. La anemia en estas formas no es apreciable y los bacilos deben buscarse en los leucocitos de las membranas serosas inflamadas.

El diagnóstico se puede establecer directamente por tinción de Giemsa y hemocultivo o de forma indirecta mediante la reacción de fijación del complemento.

El tratamiento de elección es el cloranfenicol, aunque también son activos la penicilina y estreptomicina.

La distribución geográfica queda limitada a Sudamérica y más concretamente a Perú.

FAMILIA III: ANAPLASMATACEAE

Son parásitos obligados de los eritrocitos o que pueden aparecer libres en plasma de animales domésticos o salvajes. No son patógenos para el hombre.

BIBLIOGRAFIA

Cuadra, M.: *Bartonella bacilliformis*. En Braude, A. I. (dir.): Medical Microbiology and Infectious Diseases, 510-516. W. B. Saunders, Philadelphia, 1981.

Elisberg, B. L., y Bozeman, F. M.: The Rickettsiae. En Lennette, E. H., y Schmidt, N. J. (dirs.): Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsiae and Chlamydial Infections, 5.ª ed., 1061-1108. American Public Health Association, Washington, 1979.

Hoeprich, P. D.: Rickettsialpox. En Hoeprich, P. D. (dir.): Infectious Diseases, 2.ª ed., 772-774. Harper and Row, Hagerstown, 1977.

Krieg, N. R., y Hort, J. G.: Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology, vol. I. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984.

Mandell, G. L.; Douglas, Jr., R. G., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed., 1081-1095. Wiley, New York, 1985.

Murray, E. S.: The spotted fevers, typhus fever group, scrub typhus. En Hoeprich, P. D. (dir.): Infectious Diseases, 2.ª ed., 765-771 y 775-784. Harper and Row, Hagerstown, 1977.

Ormsbee, R. A.: *Rickettsiae*. En Lennette, E. H.; Balows, A.; Hausler, W. J., Jr., y Shadony, H. J. (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 4.ª ed., 845-855. American Society for Microbiology, Washington, 1985.

Rapmund, G.: Rickettsia. En Braude, A. I. (dir.): Medical Microbiology and Infectious Diseases, 495-510. W. B. Saunders, Philadelphia, 1981.

Capítulo 52

Chlamydia

Agustín Pumarola

CONCEPTO

Las clamidias son organismos procariotas, de tamaño muy pequeño y forma esferoidal, que se comportan como parásitos intracelulares estrictos de las células de los vertebrados. Presentan un ciclo de desarrollo intracelular muy característico, que comporta la intervención de dos formas celulares, el corpúsculo elemental y el corpúsculo reticulado o inicial, que representan las formas extracelular e intracelular del parásito.

Se encuentran muy difundidas en los animales y también en el hombre, dando lugar a infecciones que, por producirse en un medio intracelular protegido, en su mayoría son inaparentes y se caracterizan en que los microorganismos pueden persistir y eliminarse durante mucho tiempo, lo que explica su infecciosidad. Producen en el hombre infecciones clínicas muy diversas, que se caracterizan por su tendencia a la cronicidad.

CLASIFICACION

Por sus especiales propiedades (pequeño tamaño, incapacidad de cultivarse en medios inanimados y parasitismo intracelular), las clamidias se han considerado durante mucho tiempo como virus (virus grandes, virus basófilos), como microorganismos intermedios entre las bacterias y virus, o semejantes a rickettsias, y han recibido distintas denominaciones (*Chlamydozoon, Myyagawanella, Bedsonia*). Sin embargo, la demostración de que su estructura es semejante a la de las células procariotas, que presentan un metabolismo activo que les permite multiplicarse por división binaria y son sensibles a los antibióticos (v. tabla 50-1), ha justificado su inclusión en las bacterias, creando por sus especiales características el orden *Chlamydobacteriales* (1971), familia *Chlamydiaceae* y género *Chlamydia*.

El género *Chlamydia* se divide en dos especies *C. psittaci* y *C. trachomatis* (tabla 52-1):

C. psittaci forma cuerpos de inclusión difusos, pobres en glucógeno, y es resistente a las sulfamidas. Es un patógeno primario de los animales, especialmente de las aves y de los mamíferos, a los que produce una gran variedad de infecciones. El hombre se infecta de manera ocasional, y esta infección se manifiesta por lo general por procesos neumónicos de gravedad diversa (psitacosis, ornitosis).

C. trachomatis, por el contrario, produce cuerpos de inclusión compactos, ricos en glucógeno, y es sensible a las sulfamidas. Es exclusivamente un patógeno humano, capaz de producir infecciones muy diversas, generalizadas o localizadas, que afectan principalmente la conjuntiva o el área genital.

MORFOLOGIA Y PROPIEDADES

Presentan una morfología esférica u ovalada y se observan como cocos gramnegativos, inmóviles y de pequeño tamaño, que puede variar en relación con la fase de desarrollo en que se encuentran (tabla 52-2).

En el curso de su desarrollo pasan por dos formas celulares netamente diferenciadas: corpúsculo elemental (CE) y corpúsculo reticulado o inicial (CR).

Corpúsculo elemental

Tiene un tamaño de 0,2-0,4 μm y se observa al microscopio ordinario como un coco muy pequeño, que se tiñe en rojo púrpura con el método de Giemsa y que por microscopia electrónica con sombreado metálico se observa con la típica imagen de «guisante arrugado» (forma esférica con una parte central más densa) típica del grupo (fig. 52-1 A).

Presenta una pared celular rudimentaria, semejante a la de las bacterias gramnegativas, que comprende el 15 % del peso seco de la bacteria. Está constituida por una capa ex-

Tabla 52-1. Caracteres diferenciales de las especies del género Chlamydia

	C. psittaci	*C. trachomatis*
Glucógeno en CI	No	Sí
Cuerpos de inclusión (CI)	Difusos	Compactos
Porcentaje de G/C del ADN	41	44-45
Resistencia a sulfamidas	Sí	No
Huésped principal	Animales vertebrados	Hombre
Serotipos	No determinados	15

Tabla 52-2. Propiedades de las formas celulares de Chlamydia

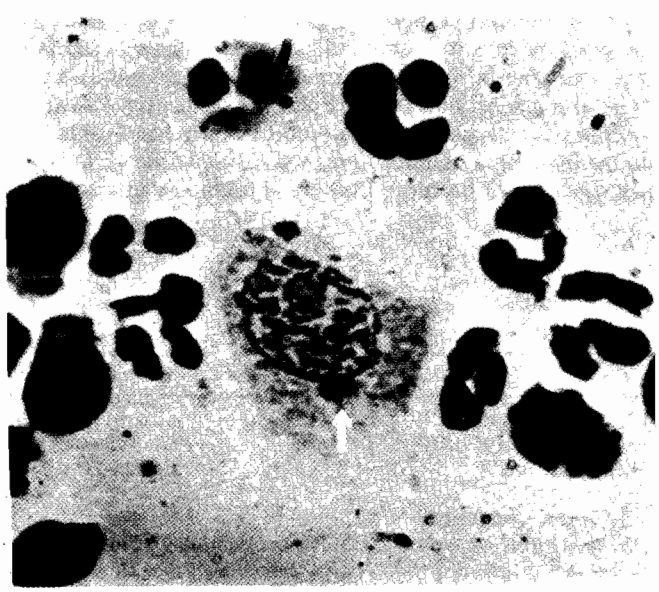
	Corpúsculos elementales	Corpúsculos reticulados o iniciales
Tamaño	0,2-0,4 µm	0,6-1,2 µm
Morfología	Esférica, parte central más densa	Ovalada y homogénea
Pared celular	Rígida	Permeable
ADN	Compacto	Difuso
Estabilidad extracelular	–	–
Infectividad	–	–
Toxicidad	–	–
Antígenos superficiales	Tipoespecíficos	Específicos de especie
Actividad metabólica	–	+
Replicación	–	+
Localización	Extracelular	Intracelular

terna granulosa y una capa interna formada por macromoléculas de 18 nm, que adoptan una disposición regular de forma hexagonal. Contiene aminoácidos azufrados con formación de puentes disulfuro, que son los responsables de su rigidez y escasa permeabilidad. La membrana citoplásmica encierra un citoplasma con ribosomas de 70S y un pequeño nucleoide excéntrico sin membrana (6,6-9,5 x 10^6 daltons), que representa 1/3-1/5 del genoma de las bacterias.

El CE es muy estable en el medio extracelular, presenta cierta resistencia a diversos agentes (ondas sónicas, tripsina) y es la forma infectiva por excelencia. Está dotado de propiedades tóxicas y en algunas cepas también hemaglutinantes (TRIC), pero metabólicamente es una forma inactiva incapaz de replicarse por división.

Corpúsculo reticulado o inicial

Es de mayor tamaño (0,6-1,2 µm) y de forma ovalada, y se tiñe de azul con el método de Giemsa (fig. 52-1 B). La pared



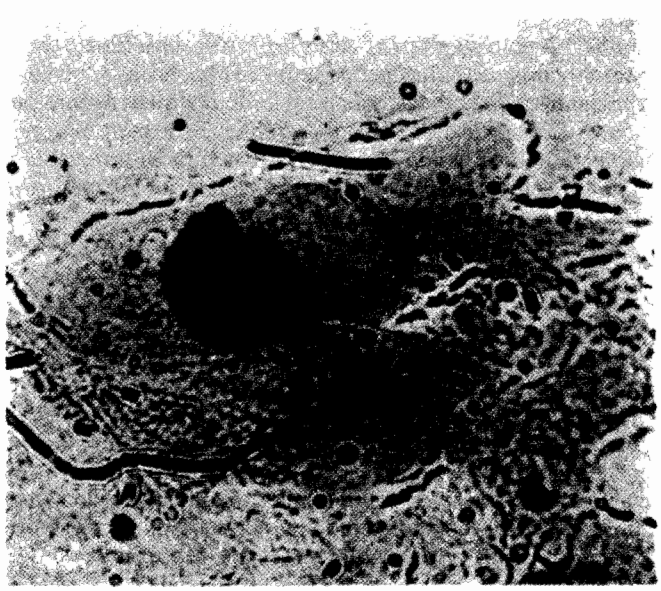


Fig. 52-1. *C. trachomatis.* A) Corpúsculos elementales que muestran la típica imagen de «guisante arrugado». Microfotografía electrónica por sombreado metálico (× 30.000). B) Cuerpos iniciales en el citoplasma de una célula epitelial de la conjuntiva. Tinción de May-Grunwald-Giemsa (× 1.000). C) Cuerpo de inclusión en forma de casquete paranuclear. Tinción por yodo (× 1.000). (Tomado de H. L. Collier: Br. Med. Bull., 15, 230, 1959.)

celular es más fina y representa el 5 % del peso seco de la bacteria; la capa interna ha desaparecido dividida en subunidades. Contiene menos fosfolípidos, sin la presencia de metionina y cisteína ni formación de enlaces cruzados en el peptidoglicano. En consecuencia, es menos rígido y permeable para el ATP, nutrientes y productos finales del metabolismo. Contiene ribosomas y el ADN se encuentra difuso en el citoplasma, que presenta un aspecto homogéneo.

Es una forma sensible y frágil, incapaz de sobrevivir en el medio externo. Representa la forma intracelular, metabólicamente activa y dotada de una gran capacidad de replicación.

CICLO DE DESARROLLO INTRACELULAR

La forma infectiva es el corpúsculo elemental. La penetración en la célula representa una fase previa de contacto, que sólo puede realizarse cuando existen compuestos o estructuras específicas. Se ha demostrado la existencia de compuestos termolábiles en las clamidias y de receptores sensibles a la tripsina en la membrana citoplásmica de las células susceptibles que facilitarían la fijación. Algunas cepas de *C. trachomatis* (TRIC), que presentan capacidad hemaglutinante, contienen una neuraminidasa que destruye el receptor en las células susceptibles. En el laboratorio puede lograrse la infección de las células disminuyendo la carga eléctrica por tratamiento con DEAE–dextrosa (dietilaminoetil-dextrosa) o centrifugando el material infeccioso sobre las células.

Una vez producida la fijación, el propio CE induce la penetración e infección de la célula, por un mecanismo semejante a la fagocitosis, que da lugar a la formación de una vesícula citoplásmica o fagosoma, a la vez que bloquea los mecanismos celulares de defensa, inhibiendo la fusión del fagosoma con los lisosomas de la célula. A las pocas horas, el CE aumenta dos o tres veces de tamaño, la pared celular se hace más fina y permeable, permitiendo el paso de ATP y metabolitos, el nucleoide desaparece y el citoplasma se hace más esponjoso y homogéneo, dando lugar a la formación del corpúsculo reticulado o inicial. Es la forma intracelular, basófila y metabólicamente activa, que se multiplica por división binaria. De esta manera, el número de CR aumenta y se agrupan formando el cuerpo de inclusión de estructura granular o cuerpo de inclusión de Halberstaedter y Von Prowazek (fig. 52-1). Más tarde, los CR sufren un proceso de transformación en virtud del cual se hacen de tamaño más pequeño, aparece el nucleoide, dando lugar a los corpúsculos intermedios, hasta que la pared celular se reorganiza y se forman de nuevo CE. La penicilina inhibe este proceso por interferencia en la reorganización de la capa interna de la pared celular. De esta manera llega un momento en que el cuerpo de inclusión está formado por partículas de diverso tamaño y diversas apetencias tintoriales (corpúsculos elementales, reticulados e intermedios), los mayores de color azulado (CR) y los menores de violeta oscuro (CE). El cuerpo de inclusión puede ser único o múltiple, compacto o difuso. A medida que aumenta de tamaño, se hace mayor la proporción de CE y persisten los CR sólo en la periferia. Por último, se produce la liberación de los CE que pueden infectar nuevas células.

Las clamidias tienen un metabolismo activo con una gran capacidad de síntesis. Sin embargo, son incapaces de generar compuestos productores de energía que dependen de la célula para la obtención del ATP y de la energía necesaria para sus procesos de síntesis. Por ello se consideran parásitos energéticos. Por otra parte, algunas especies sintetizan glucógeno en gran cantidad que acumulan en el cuerpo de inclusión.

Algunas características de los cuerpos de inclusión pueden ser de interés diagnóstico. *C. trachomatis* forma cuerpos de inclusión, por lo general únicos, densos y compactos, en forma de un casquete paranuclear, que se caracterizan por la acumulación de glucógeno, de manera que efectuando una tinción con lugol toman un color castaño oscuro. Los cuerpos de inclusión de *C. psittaci*, por el contrario, son más difusos y no acumulan glucógeno en cantidad.

ESTRUCTURA ANTIGENICA

Es compleja e incompletamente conocida. Se conoce la existencia de:

1. *Antígeno de grupo*, específico del género *Chlamydia*. Es termoestable y se puede extraer de la pared celular por éter o desoxicolato. Se ha identificado como un polisacárido acídico, cuyo antígeno inmunodominante es el ácido 2-keto-3-desoxioctónico, semejante al que se encuentra en la fracción central del LPS de las *Salmonella*. Se demuestra por reacciones de FC.
2. *Antígenos específicos de especie*, que permiten diferenciar dentro del género las dos especies, *C. trachomatis* y *C. psittaci*. Son de naturaleza proteica y termolábiles, y están asociados a la membrana externa; se han demostrado 18 fracciones antigénicas, algunas de las cuales se han podido purificar. Se demuestran por inmunoelectroforesis.
3. *Antígenos específicos de tipo*, también de naturaleza proteica y localización en la membrana externa, que permiten diferenciar las especies en serotipos, especialmente por reacciones de microinmunofluorescencia. Inducen la aparición de anticuerpos neutralizantes de la infectividad y toxicidad, relacionados con la inmunidad. Se han identificado 15 serotipos en *C. trachomatis* (tabla 52-3). Se encuentran en estudio los serotipos de *C. psittaci* y existen diferentes serotipos en las cepas de mamíferos y de aves.

ACCION PATOGENA Y CUADROS CLINICOS

Las clamidias pueden producir cuadros clínicos diversos. Hasta hace poco, la atención de los especialistas se dirigía al estudio de los síndromes producidos por *C. psittaci*, pero, en el último decenio, las investigaciones efectuadas en *C. trachomatis* han demostrado que, además de producir el tracoma y el linfogranuloma venéreo, son la causa de infecciones oculares, neumonías en el niño y sobre todo infeccio-

Tabla 52-3. Serotipos de C. trachomatis

	Enfermedad	Serotipos
TRIC	Tracoma	A, B, Ba, C
	Conjuntivitis de inclusión e infecciones genitales	D, E, F, G, H, I, J, K
LGV	Linfogranuloma venéreo	L1, L2 y L3

nes genitales en el hombre y la mujer, que se encuentran muy difundidas.

La patogenia de estas infecciones es en gran parte desconocida, pero se considera debida a factores diversos. Algunas infecciones se consideran producidas por acción directa, como la conjuntivitis de inclusión y las uretritis no gonocócicas; en otras pueden intervenir infecciones bacterianas asociadas que agravan el cuadro (cervicitis, salpingitis); por último, algunos procesos de evolución crónica se consideran el resultado de infecciones asociadas y sobre todo de reinfecciones por el mismo agente, como el tracoma y la neumonía del lactante, con intervención probable de reacciones de hipersensibilidad. *C. psittaci* es el agente causal de la psitacosis u ornitosis, infección muy difundida en las aves que en ocasiones puede transmitirse al hombre al que produce infecciones inaparentes, cuadros febriles de las vías respiratorias superiores y neumonías intersticiales de gravedad diversa, que pueden presentarse en forma epidémica y ser producidos por diversos serotipos aún no identificados.

En los casos típicos después de un período de incubación de 6-15 días aparecen escalofríos y fiebre superior a 38 °C, con cefalalgia intensa, tos seca, mialgias y malestar. Por examen radiológico se demuestra la existencia de zonas de infiltración en uno o ambos campos pulmonares. El cuadro puede persistir de 2-4 semanas, la curación es lenta, y pueden presentarse exacerbaciones y recaídas. La fiebre y la tos son los signos más característicos, y en general no se observa leucocitosis.

Además, pueden presentarse formas benignas sin localización pulmonar, formas pseudogripales y formas neumónicas graves, incluso de evolución fulminante, a veces asociadas con hepatitis e ictericia, afectación del SNC, miocarditis o signos de fallo renal.

C. trachomatis es un patógeno humano exclusivo, del que se conocen 15 serotipos (A-K y L1-L3). Los tipos A-K son los agentes del grupo tracoma-conjuntivitis de inclusión (TRIC), mientras que los serotipos L1, L2 y L3 producen el linfogranuloma venéreo (LGV). Dentro del primer grupo, el tracoma está producido por los tipos A, B, Ba y C, mientras que los tipos D, E, F, G, H, I, J y K intervienen fundamentalmente en la producción de otras infecciones oculares (conjuntivitis de inclusión y paratracoma), neonatales y genitales.

Fig. 52-2. Tracoma. Estadio I-II.

Infecciones oculares

Tracoma

Es una infección crónica del epitelio conjuntival y corneal (querato-conjuntivitis crónica contagiosa). Se inicia en la edad infantil como una conjuntivitis folicular, localizada en la conjuntiva tarsal superior, que más tarde afecta las capas subepiteliales y la córnea *(pannus)*, y evoluciona lentamente con exacerbaciones y recaídas hacia la formación de secuelas cicatrizales, responsables de gran número de casos de ceguera. La enfermedad evoluciona en 4 estadios: *a)* conjuntivitis folicular aguda o subaguda; *b)* conjuntivitis crónica con hiperplasia papilar, infiltración y vascularización corneal; *c)* pequeñas cicatrices estrelladas que producen el entropión y ulceraciones corneales, y *d)* secuelas crónicas al cabo de varios años, que conducen a opacidades corneales y ceguera. En el curso de la enfermedad se producen reinfecciones e infecciones bacterianas secundarias, que dan lugar a las exacerbaciones y recaídas, las cuales se consideran debidas a fenómenos de hipersensibilidad (fig. 52-2).

Conjuntivitis de inclusión del adulto

Está producida por los serotipos D-K, que se transmiten por contacto directo o indirecto a partir de las secreciones genitales infectadas, pues se han aislado clamidias en el 90 % de casos en el cuello del útero de la mujer y en el 50 % en la uretra en el varón. Antaño se consideró una infección de las piscinas, pero esta asociación no ha podido demostrarse con frecuencia.

Es una conjuntivitis folicular que afecta la conjuntiva tarsal inferior con infarto de los ganglios preauriculares y a veces invasión de la córnea (queratitis *punctata* difusa), que en algunos casos puede evolucionar hacia formas semejantes al tracoma. La conjuntivitis de inclusión, queratitis *punctata* y tracoma esporádico constituyen el paratracoma, que se presenta en los países desarrollados, especialmente en las zonas suburbiales del medio urbano, asociado con déficit de higiene e infecciones genitales por clamidias.

Infecciones neonatales

Conjuntivitis neonatal

A los 5-14 días del nacimiento se puede presentar una conjuntivitis purulenta, semejante a la *ophtalmia neonatorum* gonocócica, que se encuentra asociada con una infección genital de la madre por clamidias (cervicitis). Como en el adulto, la infección por lo general respeta la córnea y evoluciona lentamente hacia la curación. Sin embargo, en algunos casos puede volverse crónica y producir lesiones corneales semejantes al tracoma.

Neumonía intersticial y bilateral del lactante

Es un cuadro de conocimiento reciente, que muchas veces se presenta consecutivo a una conjuntivitis neonatal en

las 2-3 semanas después del nacimiento. Se caracteriza por tos persistente y polipnea, que a veces se hace paroxística sin que aparezca el típico «gallo» de la tos ferina, y por examen radiológico se observan infiltrados bilaterales de tipo intersticial. En estos enfermos se han aislado clamidias de aspirados traqueales y biopsias pulmonares. Es una enfermedad autolimitada y el tratamiento con eritromicina es eficaz. En Estados Unidos se calcula que el 5 % de recién nacidos sufren infecciones oculares por clamidias y el 0,5 % desarrollan una neumonía. También se han descrito ocasionalmente cuadros semejantes en el adulto.

Otros procesos

Por otra parte, *C. trachomatis* también puede producir en el recién nacido otros procesos, como rinitis, rinofaringitis, otitis y vulvitis.

Infecciones genitales

En la actualidad se considera que *C. trachomatis* es la causa más frecuente de infecciones genitales, que en su mayoría se producen por transmisión sexual. Los estudios efectuados a partir de 1970 han demostrado que interviene en la producción de uretritis en el hombre, así como de cervicitis y del síndrome uretral en la mujer.

En el hombre es la causa más frecuente de *uretritis no gonocócicas* (~ 40 %), caracterizadas por dolor a la micción y secreción purulenta menos abundante, y de *uretritis posgonocócicas* (~ 60 %) cuando la uretritis persiste después de haber sido eliminado el gonococo por tratamiento con penicilina, pues se ha demostrado que en cierta proporción (~ 20 %) puede existir una infección simultánea por clamidias. Por otra parte, se pueden producir complicaciones, como la epididimitis y la estenosis uretral.

En la mujer es una causa frecuente de *cervicitis folicular* con edema, eritema y secreción mucopurulenta, y, además, se ha demostrado su relación con el *síndrome uretral* (uretritis abacteriana con disuria y piuria); puede producir complicaciones, como endometritis y en especial salpingitis y pelviperitonitis, que pueden dar lugar a oclusiones tubáricas y ser la causa de esterilidad. En ocasiones, la salpingitis puede asociarse con perihepatitis (síndrome de Fitz-Hugh-Curtis). Por otra parte, se ha observado que en el 90 % de casos de síndrome de Reiter (síndrome uretro-conjuntivo-sinovial) se encuentra asociada con una uretritis por clamidias, que posiblemente pondría en marcha la enfermedad.

Linfogranuloma venéreo

Es una infección del tejido linfoide producida por los tipos L1-L3, que se inicia por la aparición de una pápula o vesícula en la piel de la región genital, la cual se transforma en una úlcera indolora que evoluciona hacia la curación. La infección difunde por vía linfática, de manera que a partir del primer mes se produce una adenitis inguinal, que se reblandece y forma un absceso que posteriormente se fistuliza y abre al exterior. Le sigue una fase de esclerosis, con formación de estenosis en el recto (síndrome anorrectal), uretra o vagina.

INFECCIONES PERSISTENTES Y LATENTES

Una de las características de las infecciones por clamidias es la capacidad de producir infecciones persistentes y latentes. Se ha observado la producción de infecciones latentes por *C. psittaci* en los cultivos celulares y su reactivación por tratamiento con cicloheximida. Por otra parte, la adición de penicilina inhibe la liberación de partículas infecciosas, que se reanuda cuando se suprime el antibiótico.

En el hombre no se han demostrado infecciones latentes, pero sí infecciones persistentes asociadas con la eliminación continuada del agente, como se ha descrito en algunos casos clínicamente curados de tracoma, conjuntivitis de inclusión, psitacosis e incluso infecciones genitales. En las encuestas sobre uretritis no gonocócicas, se ha demostrado que del 20-40 % de portadores de clamidias no presentan sintomatología.

DIAGNOSTICO

En las infecciones por *C. psittaci*, el diagnóstico puede efectuarse por aislamiento del agente a partir de la sangre y esputos mediante inoculación al ratón por vía nasal o peritoneal, en el saco vitelino del huevo embrionado o en cultivos de células McCoy. Sin embargo, el elevado riesgo de infecciones de laboratorio hace que la serología sea el método de elección, en especial la reacción de FC con el antígeno de grupo termoestable. En los casos de síndrome neumónico, la demostración de una seroconversión o de un aumento significativo del título de anticuerpos en sueros pares o de un título $\geqslant$ 1/64 en un solo suero se considera diagnóstica.

En las infecciones por *C. trachomatis*, el cuadro clínico puede ser demostrativo en los casos de tracoma, linfogranuloma venéreo e incluso en las lesiones oculares de la conjuntivitis de inclusión. El diagnóstico de laboratorio se basa en métodos de examen citológicos, de cultivo y serológicos.

Técnicas citológicas de examen directo

Son útiles en el diagnóstico del tracoma y conjuntivitis de inclusión por la demostración de los típicos cuerpos de inclusión de Halberstaedter y Von Prowazek, en el citoplasma de las células conjuntivales, que se observan en forma de un casquete granuloso paranuclear teñido en rojo púrpura por el método de Giemsa y en pardo oscuro por el Lugol. Su utilidad es menor en el diagnóstico de las infecciones genitales. Los métodos de IF directa o indirecta con anticuerpos monoclonales son las técnicas de elección para la identificación de clamidias en los frotis de los exudados y, en consecuencia, del mayor interés para el diagnóstico directo de las infecciones en las mucosas. También se están desarrollando técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) con buenos resultados.

Aislamiento

Está indicado en las infecciones genitales o urogenitales de transmisión sexual, así como en las infecciones oculares

y del aparato respiratorio. Aunque las clamidias se desarrollan en el saco vitelino del huevo embrionado, en la actualidad se utilizan con preferencia los cultivos celulares por su mayor sensibilidad.

La muestra está constituida por las secreciones oculares y genitales, que se toman con un escobillón y se colocan en un medio de transporte (medio 2-SP). El producto se inocula por centrifugación sobre un cultivo de células McCoy en fase estacionaria, por irradiación o tratamiento con cicloheximida. También se puesen inocular células HeLa 229 tratadas con dietilaminoetil-dextrosa (DEAE-dextrosa). El aislamiento se demuestra por la presencia de cuerpos de inclusión en el citoplasma de las células. La tinción de Giemsa y la de Lugol permiten distinguir *C. trachomatis* de *C. psittaci*. Sin embargo, la detección de virus o sus antígenos en los cultivos por IF con anticuerpos monoclonales es la prueba más sensible y específica.

Serología

Reacción de FC

La reacción de FC con antígeno de grupo, ampliamente utilizada para el diagnóstico de la psitacosis, es poco útil para el diagnóstico de las infecciones por *C. trachomatis* serotipos A-K, por su poca sensibilidad. Hay que tener en cuenta que son infecciones muy difundidas de evolución subaguda o crónica, de manera que se detectan con frecuencia títulos bajos de anticuerpos en la población. Se considera de utilidad en el diagnóstico de las infecciones generalizadas (infecciones febriles, neumonías y linfogranuloma venéreo) y de las genitales complicadas (epididimitis, artritis, pelviperitonitis). En estos casos, la demostración de un aumento significativo del título de anticuerpos (× 4) o un título $\geqslant$ 1/64 en un solo suero se considera diagnóstica.

Reacción de microinmunofluorescencia

Por su mayor sensibilidad y especificidad se emplea en el diagnóstico de las infecciones por los serotipos A-K. Deben emplearse antígenos tipoespecíficos (CE) de los 15 serotipos, lo que hace que la reacción sea muy laboriosa aunque se ha simplificado por el empleo de mezclas polivalentes de antígenos o del antígeno L2 que presenta una amplia reactividad cruzada. Se pueden detectar anticuerpos séricos y locales (lágrimas). El carácter crónico de estas infecciones hace que sea difícil demostrar un aumento significativo de anticuerpos entre dos muestras, y los títulos en una sola muestra tiene poco valor, ya que, en los grupos de población de alto riesgo, la proporción de reactores positivos puede ser superior al 50 %. Sólo cuando se detecta el primer episodio en una infección reciente, el diagnóstico serológico puede ser de utilidad. En la micro-IF se considera diagnóstico el hallazgo de títulos iguales o superiores a 1/256 en el LGV, 1/128 en las salpingitis, 1/64 en las cervicitis y 1/32 en las uretritis no gonocócicas. Sin embargo, la demostración de las IgM específicas por micro-IF se considera la prueba más segura para el diagnóstico serológico de las infecciones recientes o activas, a excepción de las infecciones genitales en las que se ha demostrado un cierto número de falsos positivos. La inoculación por vía intradérmica de una suspensión inactivada de clamidias (LGV) o intradermorreacción de Frei, que se ha utilizado mucho en el pasado para llegar al diagnóstico de un estado de hipersensibilidad retardada, en la actualidad apenas se emplea por su menor sensibilidad y especificidad.

Se discute el valor de la presencia de anticuerpos locales, que parece ser importante en el diagnóstico de las infecciones oculares (lágrimas), variable en las cervicitis y sin interés en las uretritis. Las técnicas de inmunoanálisis (RIA, ELISA), aunque presentan una sensibilidad semejante, son en general menos específicas y producen reacciones cruzadas con otras clamidias.

TRATAMIENTO

Las clamidias son sensibles en general a los antibióticos de amplio espectro, que inhiben la síntesis proteica, como las tetraciclinas y la eritromicina, las cuales, además, difunden por los tejidos genitales y son activas sobre otros patógenos. El cloranfenicol es menos activo y la penicilina inhibe la transformación de los CR en CE prolongando la latencia. La rifampicina, que es un inhibidor de la síntesis de los ácidos nucleicos, también es activa. Por el contrario, los aminoglicósidos, cefalosporinas, lincosamidas, nitroimidazoles, vancomicina y anfotericina B no actúan. Por otra parte, *C. trachomatis* se caracteriza por su sensibilidad a las sulfamidas, especialmente al cotrimoxazol.

En las infecciones genitales y oculares se aconseja la administración de tetraciclinas, ya que en las infecciones genitales se ha observado una disminución de la sensibilidad de las clamidias a la eritromicina. La tetraciclina, por el contrario, está contraindicada en el tratamiento de la embarazada, durante el período de la lactancia y en los niños (conjuntivitis, neumonía), y se administra eritromicina en estos casos.

En los pacientes con infecciones oculares debe administrarse el antibiótico por vía general, para así tratar la infección genital concomitante. De la misma manera, en las infecciones genitales es esencial tratar simultáneamente a la pareja y a los contactos. En los casos de aborto está indicado efectuar una profilaxis antibiótica de una posible infección genital por clamidias para evitar las complicaciones ascendentes.

EPIDEMIOLOGIA

La psitacosis es una infección primaria de las aves. Se afectan más de 90 especies, en particular las aves psitácidas (loros, cacatúas, periquitos), que presentan cuadros diversos, sobre todo gastrointestinales y menos veces respiratorios, con eliminación del organismo fundamentalmente por las heces. También se presenta la infección en las palomas, pollos, pavos y gorriones, que adopta en general la forma de infecciones inaparentes o latentes, con eliminación del agente durante largo tiempo. En condiciones de estrés, especialmente durante el transporte de estas aves, pueden reactivarse las infecciones latentes y producirse cuadros clínicos de diversa gravedad.

El hombre se infecta de manera ocasional cuando se pone en contacto con estas aves por vía respiratoria, digestiva o a través de heridas por mordedura; muchas veces es una enfermedad profesional.

También afecta a los vertebrados inferiores, a los que produce una gran variedad de cuadros clínicos, que se manifiestan por aborto, infecciones respiratorias (conjuntivitis, neumonitis), artritis, enteritis y encefalitis, cuya relación con la infección humana se desconoce.

El tracoma es una infección que se presenta de forma hiperendémica en los países de clima cálido y seco, con falta de agua y en condiciones de higiene personal y ambiental deficitarias (Norte de Africa, Oriente Medio y Lejano). La infección se transmite a partir de las secreciones conjuntivales de los enfermos por contacto directo o indirecto (manos, toallas y moscas). Afecta a los sectores más pobres de la población (falta de agua, suciedad, hacinamiento), lo que facilita la multiplicidad de los contagios. Produce diversas secuelas cicatrizales y es la causa de gran número de casos de ceguera.

El linfogranuloma venéreo es una infección de transmisión sexual, que presenta una distribución universal y se encuentra en forma endémica en los países tropicales y subtropicales, especialmente en el Sudeste Asiático.

La conjuntivitis de inclusión y las infecciones genitales por *C. trachomatis* se transmiten a partir de las secreciones genitales infectadas (cervicitis, uretritis) durante el parto por paso a través del canal vaginal infectado, que es la causa de la conjuntivitis neonatal y la neumonía del lactante, o por contacto directo o indirecto con estos productos infectados (conjuntivitis de inclusión, paratracoma) o por contacto sexual, que da lugar a gran número de infecciones genitales, en su mayoría inaparentes, que constituyen el reservorio de clamidias en la población.

PROFILAXIS

En la psitacosis se debe evitar el contacto con aves infectadas: eliminación de las aves enfermas, tratamiento de las aves (periquitos y canarios) con tetraciclina y control de las aves importadas. En el tracoma, la profilaxis se basa en el diagnóstico y tratamiento precoz de los casos, impedir la transmisión extremando la limpieza e higiene individuales, suministro de agua potable y lucha contra las moscas. En el linfogranuloma venéreo, la profilaxis se realiza mediante la detección precoz y tratamiento de los casos y contactos. En las embarazadas debe considerarse el tratamiento de la cervicitis como profilaxis de la conjuntivitis del recién nacido y de la neumonía del lactante. El método de Credé para la profilaxis de la infección gonocócica del recién nacido no es eficaz. Deben administrarse tetraciclinas. No existen vacunas eficaces en la profilaxis de las infecciones por clamidias.

BIBLIOGRAFIA

Grayston, J. T., y Wang, S. P.: New knowledge of *Chlamydiae* and the diseases they cause. J. Infect. Dis., 132, 87-105, 1975.

Harrison, H. R.; English, M. G.; Lee, C. K., y Alexander, E. D.: *Chlamydia trachomatis* infant pneumonitis. N. Engl. J. Med., 298, 702-708, 1978.

Lumicao, G. C., y Heggie, A. D.: *Chlamydiae* infections. Pediatr. Clin. North Am., 26, 269-281, 1979.

Mardh, P. A.; Moller, B. R., y Paavonen, J. (dirs.): *Chlamydia tracomatis* in genital and related infections. Scand. J. Inf. Dis. (Suppl.), 32, 1982.

Oriel, J. D., y Ridgway, G. L.: Genital Infections by *Chlamydia trachomatis*. Edward Arnold, London, 1982.

Pumarola, A.; Gatell, J. M.; Beltran, M., y cols.: Psitacosis. Med. Clin., 80, 345-348, 1982.

Schachter, J., y Caldwell, H. D.: *Chlamydiae*. Ann. Rev. Microbiol., 34, 285-309, 1980.

Parte V

Virología

Capítulo 53

Virología general (I)

Agustín Pumarola

CONCEPTO DE VIRUS

Los virus constituyen un grupo de agentes infecciosos de estructura subcelular, que se comportan como parásitos intracelulares estrictos. Se caracterizan por su pequeño tamaño, estructura elemental y mecanismo de replicación.

1. El *tamaño* de los virus es muy pequeño, pues en general no son visibles al microscopio ordinario y pasan a través de los filtros que retienen el paso de las bacterias.
2. La *estructura* de los virus más simples está constituida básicamente por un solo ácido nucleico, rodeado de una cubierta proteica, y puede presentar, además, una envoltura. No poseen ribosomas ni otras formaciones intracelulares y sólo los virus mayores contienen algunos fermentos. En consecuencia, los virus aislados carecen de metabolismo, porque no poseen la maquinaria biosintética necesaria para la producción de energía y de macromoléculas; son, por tanto, incapaces de crecer y dividirse en medios inanimados, y se comportan como partículas inertes.
3. Sólo se *desarrollan y multiplican* en el interior de células vivas, de las que dependen totalmente para la obtención de energía y la síntesis de proteínas, y pueden considerarse parásitos intracelulares estrictos. Se reproducen por un mecanismo particular (replicación), en virtud del cual el ácido nucleico del virus orienta el metabolismo de la célula hacia la síntesis de sus propios componentes, que en una primera fase se forman por separado en zonas críticas de la célula y posteriormente se integran para formar la partícula completa del virus. El ácido nucleico suministra la información para programar en la célula la síntesis de sus componentes; el cápside y la envoltura lo protegen en el medio ambiente y facilitan su transmisión de una célula a otra.
4. Por otra parte, los virus no son sensibles a los antibióticos que actúan en etapas específicas del metabolismo de las bacterias, y el interferón inhibe su mecanismo de replicación intracelular.

Por presentar unas características tan distintas de la estructura de la célula procariota, los virus se diferencian netamente de las bacterias, micoplasmas, rickettsias y clamidias (tabla 53-1), y no pueden considerarse células. Es muy difícil conocer exactamente su situación en la naturaleza, pero constituyen un grupo bien definido de agentes infecciosos de estructura subcelular, que forman un grupo aparte, y no existen formas intermedias con otros microorganismos.

Producen infecciones en el hombre, animales vertebrados e invertebrados, plantas y bacterias. Los virus que afectan al hombre y a los animales se denominan virus animales; se encuentran dentro de los agentes que producen con mayor frecuencia infecciones agudas, y en la actualidad se conocen más de 500.

TAMAÑO

El tamaño de los virus es muy pequeño. Mientras que las bacterias se miden en micras (μ) o micrómetros (μm), los virus se miden en milimicras (mμ) o nanómetros (nm), que son unidades mil veces menores, y en Angstroms (Å), que son diez mil veces menores.

Por métodos de filtración, ultracentrifugación y microscopia electrónica se ha podido determinar que el tamaño de los virus varía de 20 a 300 nm, existen virus grandes, como los poxvirus (300 nm), virus de tamaño mediano, como los mixovirus (100 nm), y virus pequeños, como los parvovirus (20 nm), y puede establecerse una gradación de tamaños entre las bacterias, rickettsias, clamidias, micoplasma, virus y las grandes moléculas proteicas (tabla 53-1).

Por ello, el tamaño no constituye un criterio diferencial suficiente para separar los virus de los demás agentes infecciosos.

MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA

Los virus, a excepción de los mayores (poxvirus), no son visibles al microscopio ordinario. Con la aparición del mi-

Tabla 53-1. Escalas de tamaños de las bacterias, virus y moléculas proteicas (en nm)

Estafilococos	1.000
Rickettsias	600
Clamidias	300
Micoplasmas	250
Virus de la viruela	300
Virus de la gripe	100
Poliovirus	28
Hemocianina	23
Seroalbúmina	5
Seroglobulina	7

croscopio electrónico (fig. 53-1) se consideró que se iban a resolver todos los problemas de morfología y estructura, pero su empleo durante los primeros años fue decepcionante, pues sólo permitió demostrar que la mayoría de virus que afectan al hombre y a los animales eran de forma esférica u ovoide, aunque algunos podían presentar una forma cuadrangular (poxvirus) o filamentosa (mixovirus).

Estos hechos, debidos fundamentalmente al grosor de las preparaciones y al poco contraste, fueron corregidos en años posteriores merced al descubrimiento de técnicas complementarias, como las secciones ultrafinas, el sombreado metálico y las de tinción negativa y directa, que, junto con los métodos de difracción por rayos X, permitieron conocer la morfología y estructura de los virus con un elevado grado de precisión*.

En los virus de estructura más sencilla, la partícula del virus, o virión, está compuesta por una molécula de ácido nucleico encerrada en una cubierta proteica o cápside, que constituye en conjunto el nucleocápside, que puede estar «desnudo» o «envuelto» cuando está rodeado por una envoltura, denominada peplos. En los virus más complejos, debajo del cápside puede existir una parte central formada por una nueva estructura proteica, que a su vez contiene el genoma viral.

El cápside es una estructura proteica compuesta por subunidades. Por microscopia electrónica se ha observado que está dividido en unidades morfológicas o capsómeros y, por métodos de difracción por rayos X, que los capsómeros están compuestos a su vez por una o varias unidades químicas o de estructura, constituidas por polipéptidos; forman polímeros, que pueden ser homopolímeros o heteropolímeros, según se unan polipéptidos de la misma clase o de distinta.

Los capsómeros se acoplan por un proceso de autoagrupación y para ello las subunidades proteicas, que en sí mismas son asimétricas, deben ordenarse siguiendo un plan simétrico. Por diversos métodos fisicoquímicos se ha podido demostrar que los virus pueden adoptar dos tipos fundamentales de simetría geométrica y sobre esta base pueden clasificarse en 4 grupos.

Virus con simetría icosaédrica

Un gran número de virus se parecen a pequeños cristales de morfología icosaédrica. Posiblemente es debido a que el

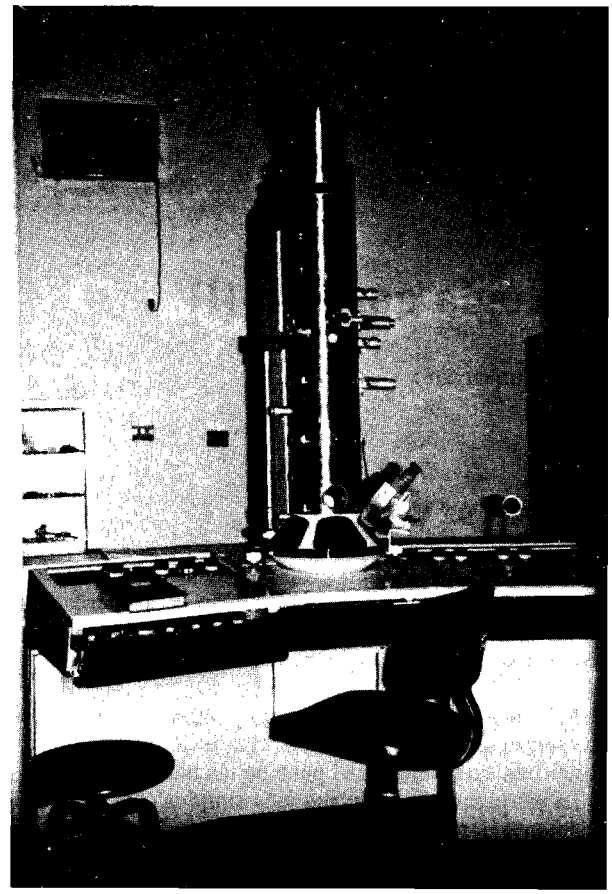


Fig. 53-1. Microscopio electrónico.

icosaedro es el modelo más eficaz para formar, a base de subunidades, una estructura compacta de la máxima fortaleza y capacidad con la mayor economía de material genético.

El icosaedro es un poliedro compuesto por 20 caras, triángulos equiláteros, 30 aristas y 12 vértices, con una simetría de rotación de orden 5:3:2 (fig. 53-2). Se ha estudiado el número y ordenación de las subunidades químicas para llegar a la formación de un icosaedro y los sistemas de agrupación de estas subunidades para formar los capsómeros. Por métodos de difracción por rayos X ha podido determinarse que, en los virus más pequeños, el número de unidades proteicas necesarias para formar un icosaedro es de tres unidades por cara, de manera que se requerirían como mínimo 60 unidades. En los virus mayores, cada cara puede subdividirse a su vez en triángulos equiláteros sin perder la simetría, lo que constituye el número de triangulación T, de manera que el número de unidades proteicas para formar el cápside en los distintos virus icosaédricos sería de 60 ó un múltiplo de 60 (60 T) (fig. 53-3). La ordenación de estas subunidades asimétricas en la cápside es análoga a la cúpula geodésica, que supone la subdivisión de la superficie de una esfera en caras triangulares que se ordenan según la simetría icosaédrica (fig. 53-4).

Pero, además, las unidades proteicas se unen para formar los *capsómeros* o *unidades morfológicas*, que hacen relieve en la superficie de la partícula, lo que puede resultar de la agrupación de varias de estas unidades, formando dímeros, trímeros, pentámeros o hexámeros. Por lo general, en la mayoría de virus icosaédricos, los capsómeros resultan de

*Sombreado metálico. La preparación o película que contiene el virus se coloca en un recipiente, donde se efectúa el vacío que produce la fijación y desecación de las partículas del virus. Desde un ángulo del recipiente se proyecta un vapor metálico que recubre las partículas de una capa opaca a los electrones, a excepción de su parte posterior donde se genera una «sombra» cuyas características revelan la forma y dimensiones del virus.

Tinción negativa. La muestra se mezcla con una solución de fosfotungstato sódico opaca a los electrones, que se extiende en capa fina sobre una película de soporte que se deseca. La solución rodea las partículas, penetra y se acumula en los intersticios de las subunidades, entre las partículas y la película de soporte, y forma una fina capa en la superficie del virus. Por microscopia electrónica, los virus se observan como zonas transparentes sobre un fondo opaco que revela los detalles de su estructura (capsómeros, peplómeros).

Secciones ultrafinas. Por ultramicrotomía se practican secciones de 800 y 1.200 Å, que se utilizan para el estudio de los virus en el interior de las células o de los tejidos.

Tinción directa. Algunos componentes de los virus pueden impregnarse por sales que se adsorben en su superficie. El acetato de uranilo se fija sobre el ácido nucleico y otros componentes. Los anticuerpos conjugados con moléculas opacas a los electrones, como la ferritina, permiten impregnar y observar las proteínas. La asociación de varios de estos métodos permite mejorar los resultados.

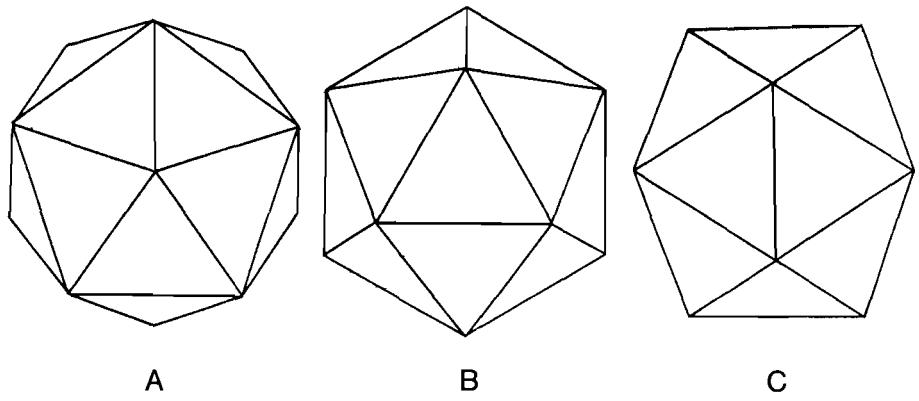


Fig. 53-2. Icosaedro visto según sus ejes de simetría 5:3:2 (A, B y C).

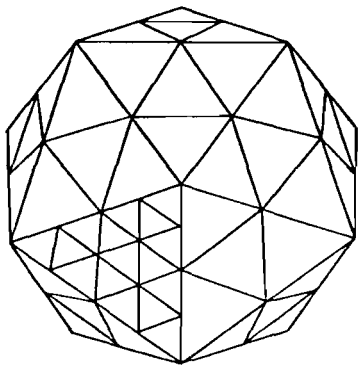


Fig. 53-3. Triangulación de un icosaedro.

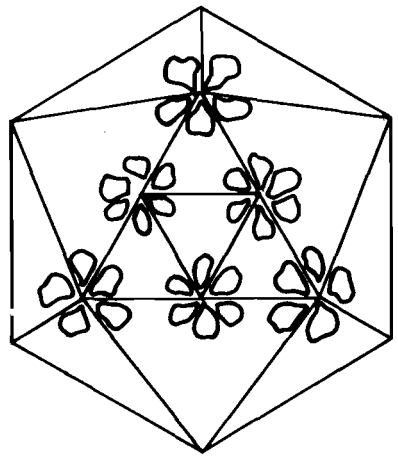


Fig. 53-5. Ordenación de los pentones y hexones en los vértices de un icosaedro.

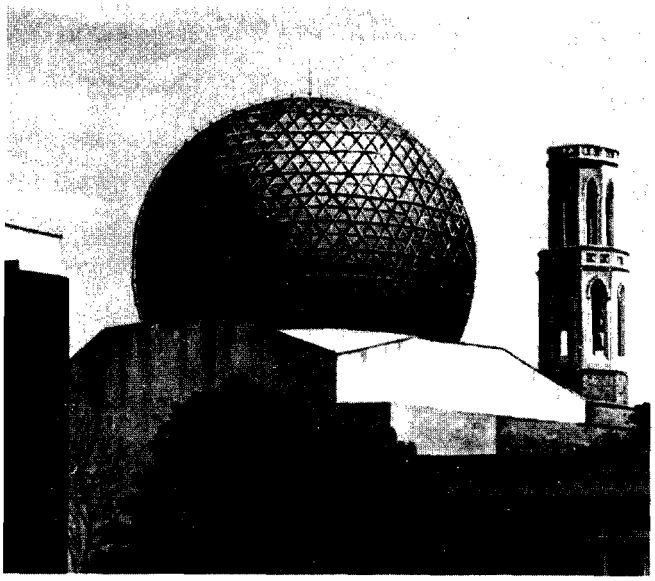


Fig. 53-4. Cúpula geodésica del Museo Dalí (Figueras, España).

la agrupación de 5 unidades en los vértices, donde confluyen 5 triángulos y se forman 12 capsómeros pentámeros o pentones, número que siempre se mantiene constante y de 6 unidades en las caras donde concurren 6 nuevos triángulos formando capsómeros hexámeros o hexones (figura 53-5), cuyo número variará según la cifra de triangulación en relación con el tamaño de la partícula del virus, pudiéndose determinar el número de capsómeros por la fórmula 10T + 2 (tabla 53-2).

Tabla 53-2. Número de capsómeros en diversos virus icosaédricos

N.º T	N.º de capsómeros	Virus
1	12	Fago ∅ X 174
3	32	Parvovirus
7	72	Papovavirus
9	92	Reovirus
16	162	Herpesvirus
25	252	Adenovirus

T: Número de triangulación.

Los capsómeros son estructuras huecas, que presentan una forma esferoidal (adenovirus) o más frecuentemente de prisma (herpesvirus, papovavirus) y que por tinción negativa se observan como un anillo con una zona hueca central.

Algunos virus icosaédricos y los de estructura más compleja pueden contener debajo del cápside una nueva proteína, denominada proteína interna, que, si bien en algunos casos puede también adoptar una simetría icosaédrica o cápside interno (reovirus), en la mayoría (adenovirus, poxvirus, herpesvirus) no presenta una estructura bien definida.

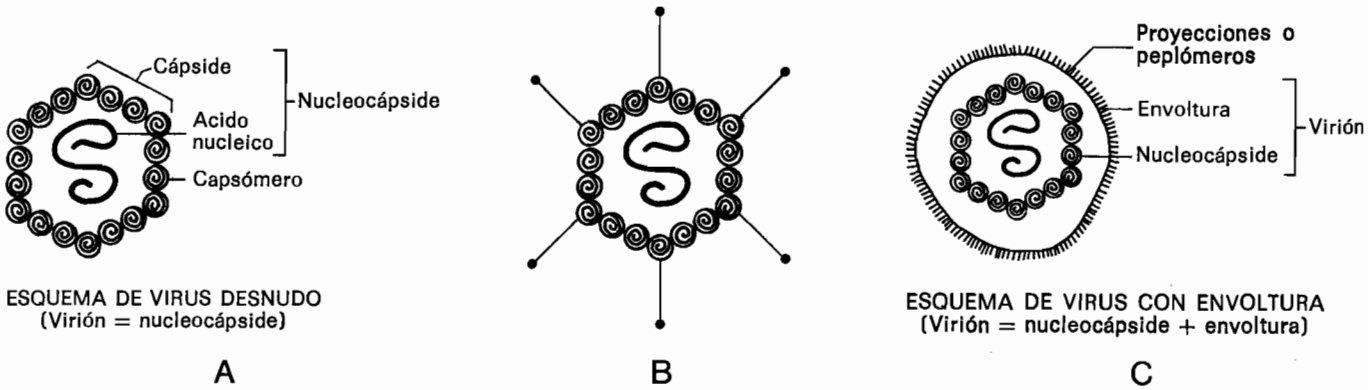


Fig. 53-6. Virus con simetría icosaédrica. A) Virus desnudo (picornavirus). B) Virus desnudo con fibras en los vértices (adenovirus). C) Virus con envoltura cubierta de proyecciones (togavirus).

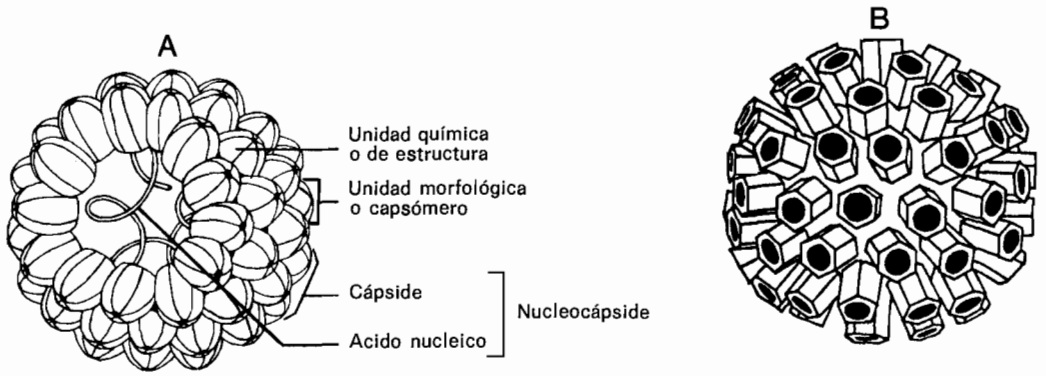


Fig. 53-7. Virus con simetría icosaédrica. A) Adenovirus con 252 capsómeros esferoidales, pentones en los vértices y hexones en las aristas. B) Reovirus con 92 capsómeros en forma de prisma pentagonal o hexagonal.

El ácido nucleico puede encontrarse aislado debajo del cápside o asociado a proteínas básicas. En este caso forma en la parte central del virión una estructura plegada y compacta. En algunos virus ADN incluso puede adoptar una estructura semejante a la cromatina.

El nucleocápside puede estar desnudo (picornavirus, papovavirus, parvovirus) o envuelto por una envoltura de naturaleza lipoproteica (herpesvirus, togavirus, bunyavirus), que puede estar dotada de proyecciones o espículas de glicoproteínas.

Asimismo, algunos virus desnudos como los adenovirus pueden presentar espículas o fibras en los vértices de la partícula (figs 53-6 y 53-7).

Virus con simetría helicoidal

El nucleocápside se presenta como un tubo hueco formado por un filamento de ácido nucleico dispuesto en espiral en el centro. Las unidades químicas o de estructura están constituidas por numerosas moléculas de un mismo tipo de proteína (protómeros), que se unen formando una estructura en forma de cinta que se enrolla alrededor del ácido nucleico. A su vez establecen enlaces laterales con las subunidades de espiras adyacentes e incluso enlaces débiles con el ácido nucleico, que comunican una gran estabilidad (fig. 53-8).

Se diferencian por el diámetro del espiral o hélix. El virión puede estar constituido según dos modelos diferentes:

1. Por un tubo rígido que adopta una forma de bastón, sin envoltura. El ejemplo más característico es el virus del mosaico del tabaco, que es el mejor conocido.
2. Por un tubo flexible enrollado que puede ser:

a) De forma regular, ya con aspecto de pelota o resorte, como en los ortomixovirus (fig. 53-9 A), o de bala o dedal, como en los rabdovirus (fig. 53-9 C).

b) De forma irregular, como en los paramixovirus (figura 53-9 B).

En estos casos, el virión está delimitado por una envoltura membranosa de naturaleza lipoproteica, que es laxa en los mixovirus y más tensa en los rabdovirus. Está compuesta por dos capas:

1. Una capa interna, constituida por proteínas específicas del virus (proteína matriz o M).
2. Una capa externa, derivada de la membrana citoplásmica de la célula infectada y que es, por tanto, de naturaleza lipoproteica, pero cuyas proteínas han sido sustituidas

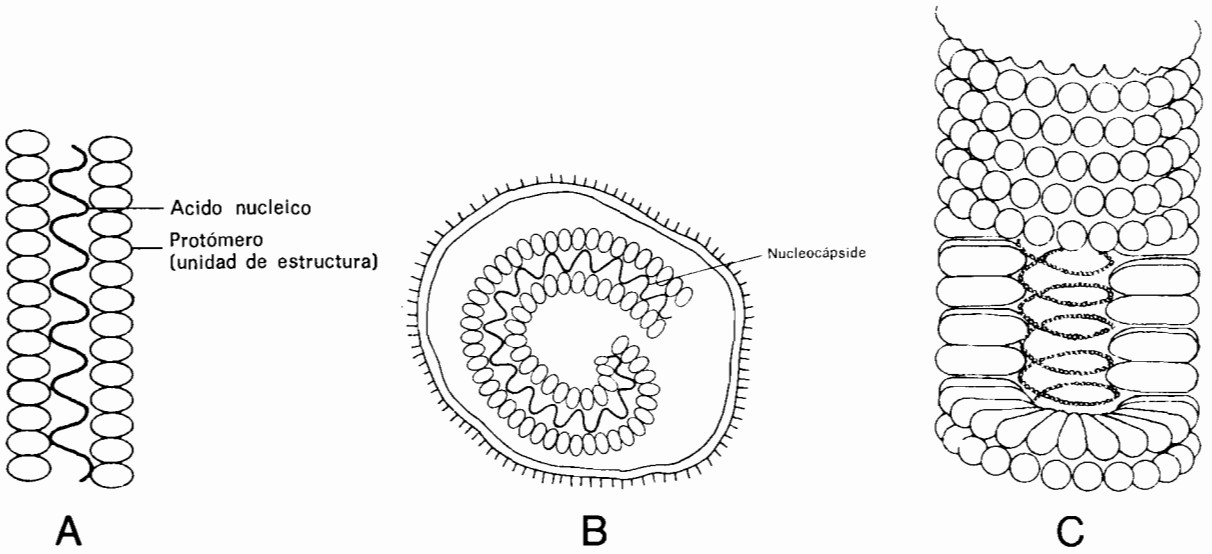


Fig. 53-8. Virus con simetría helicoidal. A y C) Virus desnudos. B) Virus con envoltura recubierta de proyecciones (mixovirus).

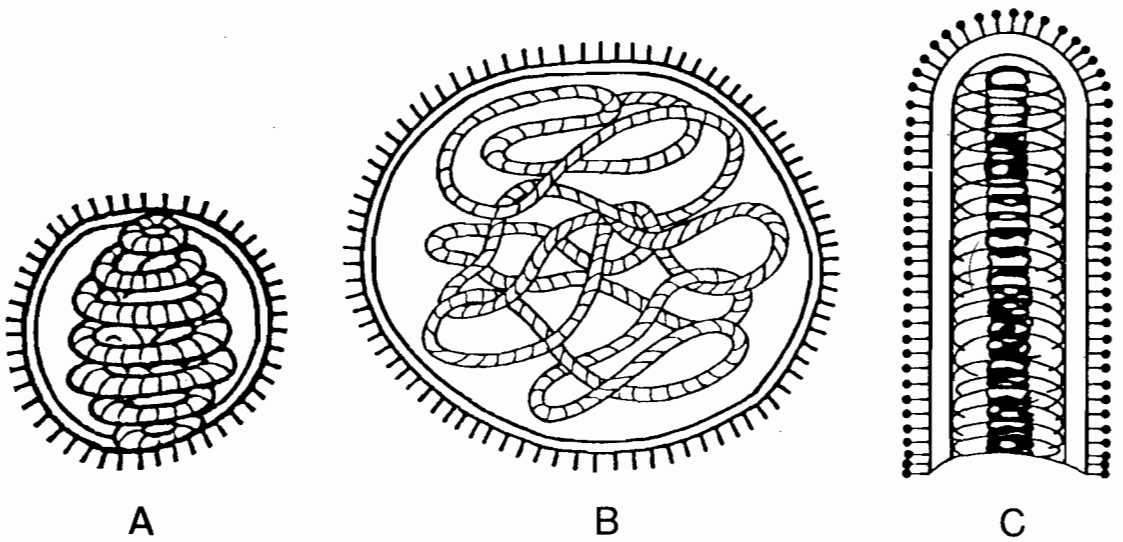


Fig. 53-9. Virus con simetría helicoidal. A) Ortomixovirus. B) Paramixovirus. C) Rabdovirus.

por glicoproteínas específicas del virus que constituyen subunidades de la envoltura o peplómeros, también denominadas proyecciones, porque por microscopia electrónica se observan que forman un relieve en la superficie de la envoltura.

Virus con simetría mixta o binaria

Algunos bacteriófagos presentan una simetría mixta, pues la cabeza tiene simetría cúbica y la cola, helicoidal (figura 53-10).

Virus de estructura compleja y simetría no bien definida

En este caso se encuentran los poxvirus (fig. 53-11), que presentan una estructura formada por una envoltura externa compuesta por subunidades proteicas de forma tubular, dispuestas irregularmente, que encierran una parte central en forma de lente bicóncava, que presenta a ambos lados dos formaciones ovoides o cuerpos laterales de naturaleza desconocida. La parte central contiene el ácido nucleico (ADN) asociado con proteínas y no se conoce con certeza el tipo de simetría.

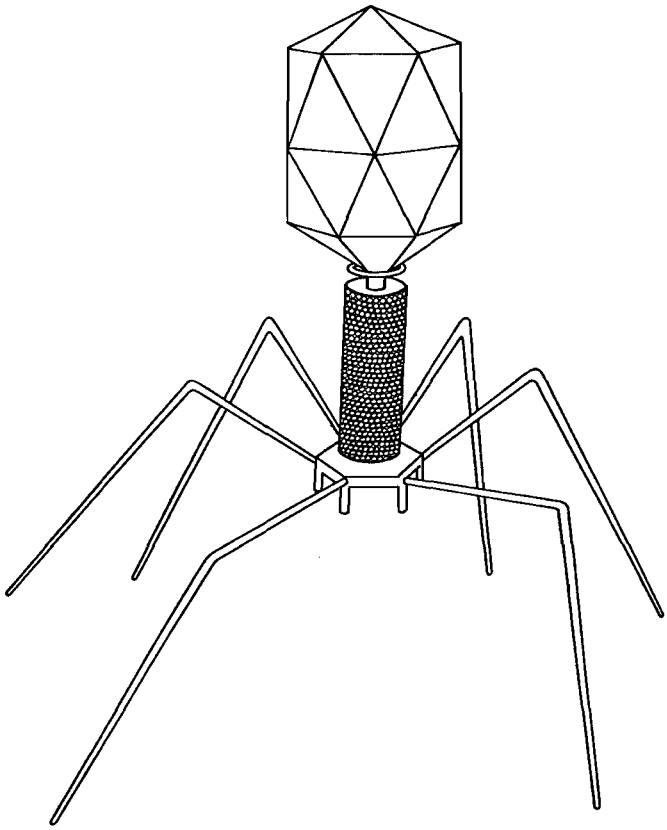


Fig. 53-10. Virus con simetría mixta. Bacteriófago.

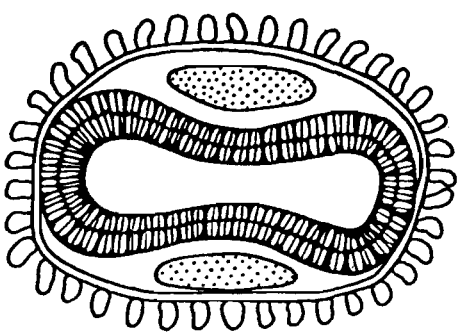


Fig. 53-11. Virus con simetría compleja. Poxvirus.

AGENTES INFECCIOSOS SUBVIRALES

Además de los virus, se ha demostrado que algunas enfermedades de las plantas, del hombre y de los animales pueden ser producidas por agentes filtrables de tamaño muy pequeño, que presentarían algunas propiedades diferentes de los virus. Los más importantes son los viroides y los virus no convencionales o priones.

Viroides

Los viroides fueron descubiertos por Diener, en 1971, en una enfermedad de las plantas, la enfermedad por tubérculos fusiformes de la patata, al demostrar en los extractos y en el núcleo de las células vegetales la presencia de material infeccioso de tamaño muy pequeño sensible a la ribonucleasa y resistente a la desoxirribonucleasa, al calor y al fenol, lo que hizo suponer que presentaba la característica de los ácidos nucleicos sin la presencia de proteínas.

Serían pequeñas moléculas de ARN monocatenario, de PM de alrededor de 100.000, que se encuentran plegadas y que presentan una estructura secundaria particular con apareamiento intracatenario parcial de las bases, que hace que existan regiones con ARN monocatenario alternando con otras de ARN bicatenario, simulando asas y estando totalmente desprovistas de cubierta proteica.

Contienen la información genética sólo para su propia replicación, que se realiza en el núcleo de la célula y se considera que dicha replicación interferiría con la síntesis del ARN mensajero y ARN nucleolar de la célula huésped, comportándose, por tanto, la célula como un inhibidor competitivo y desorganizado funcionalmente.

Hasta el presente sólo se han demostrado en 11 enfermedades de las plantas, como el mosaico del crisantemo, la clorosis del pepino, el exocortis de los cítricos, etc.

Priones

Por otra parte, desde hacía tiempo se conocía la existencia de enfermedades crónicas y degenerativas del SNC de los animales y del hombre, como el scrapie o prurito lumbar de las ovejas, el kuru o ataxia degenerativa endémica y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (demencia presenil), que se podían transmitir a los animales por inoculación de cerebro de los enfermos y que se consideraban como virosis lentas, pero en las cuales no se había podido demostrar la presencia de virus.

Se pensó que podían ser producidas por viroides, pero recientemente Prusiner consiguió aislar de la sustancia amiloide de los enfermos unas glicoproteínas capaces de transmitir la enfermedad a ratones y hámsters, a las que denominó «priones» por considerar que eran proteínas infecciosas de bajo peso molecular (27.000-30.000), no antigénicas, con una gran tendencia a la agregación y que al microscopio electrónico se observan como fibrillas de 20 × 200 nm. Son resistentes a las sustancias y procedimientos que inactivan los virus (rayos UV, calor, nucleasas, formol, glutaraldehído, óxido de etileno), pero se inactivan por una solución de NaOH 0,1 N. No se conoce con certeza su mecanismo de replicación, pero se considera que por su pequeño tamaño no pueden contener la información genética necesaria para su síntesis, sino que ésta se encuentra codificada en el ácido nucleico de la célula huésped, que normalmente no se expresa, pero que la infección o inoculación de priones producirían su desrepresión y la producción de la enfermedad.

Su resistencia a la inactivación y falta de antigenicidad ha hecho que se consideren como moléculas de proteínas muy pequeñas o muy protegidas por agregación de las unidades infecciosas, que podrían ser los primeros agentes infecciosos sin ácido nucleico, lo que aún no está totalmente demostrado.

COMPOSICION QUIMICA Y PROPIEDADES

El estudio de la composición química de los virus ha sido posible gracias a los avances tecnológicos efectuados y al

empleo de diversas técnicas analíticas, que han logrado purificar y concentrar los virus sin desnaturalizar sus componentes. Estos estudios han permitido determinar que los virus contienen un ácido nucleico, diversas proteínas y, en algunos casos, una pequeña cantidad de hidratos de carbono y de lípidos. Constituyen una excepción los oncornavirus, que, además de su ARN, pueden contener pequeñas cantidades de ADN.

Acido nucleico

El ácido nucleico es el soporte de la información genética, de la capacidad de replicación y, por tanto, de la infecciosidad. A este respecto, los virus presentan las siguientes características:

1. Contienen un solo tipo de ácido nucleico, que puede ser ADN o ARN, lo que ha permitido dividir los virus en dos grandes grupos: ribovirus, cuando contienen ARN, y desoxirribovirus, cuando contienen ADN. Los ribovirus constituyen el único ejemplo en la naturaleza de agentes infecciosos, en que el ARN es el portador de toda la información genética. La identificación del ácido nucleico puede efectuarse por pruebas de sensibilidad enzimática (ADNasas y ARNasas).

2. Pueden estar constituidos por una sola cadena de nucleótidos (ácido nucleico monocatenario) o una doble cadena (bicatenario). En los ribovirus, el ARN por lo general es monocatenario (mixovirus, togavirus, picornavirus), con la excepción de los reovirus, en que es bicatenario. Por el contrario, los desoxirribovirus presentan un ácido nucleico bicatenario (adenovirus, poxvirus, herpesvirus), con la excepción de los parvovirus y algunos fagos, en que es monocatenario. La identificación de un ácido nucleico mono o bicatenario se puede efectuar por tinción con naranja de acridina y observación del color en el microscopio de fluorescencia (amarillo = bicatenario; rojo = monocatenario).

3. El peso molecular del ácido nucleico y, por tanto, su longitud están en relación con el tamaño del virus, y se ha demostrado que varían dentro de amplios límites, desde 1,6 a 160 millones de daltons, lo que corresponde de 3 a 160 genes o cistrones. El ácido nucleico se puede caracterizar, además, por la secuencia de la cadena de nucleótidos y sobre todo la composición en bases, en especial su contenido en guanina y citosina (G + C), que puede variar del 35 al 75 %, mientras que en las células animales sólo varía del 40 al 44 %. Estos datos, junto con los métodos de hibridación del ácido nucleico, han permitido demostrar que los virus constituyen un grupo más diverso que los mamíferos.

4. El ácido nucleico de los virus puede obtenerse en forma de una gran molécula continua, lineal o circular, y en este último caso en forma circular plana o hiperenrollada (fig. 53-12). También puede estar dividida en fragmentos que podrían corresponder a distintos genes, como ocurre en algunos ribovirus (8 fragmentos en los mixovirus y 10 en los reovirus). En este caso cabe muy bien suponer que los distintos fragmentos estarían unidos en el virión por enlaces débiles.

5. En los ribovirus monocatenarios, el ARN puede estar constituido por la cadena positiva, equivalente al ARN mensajero, o la cadena negativa o complementaria. En los desoxirribovirus monocatenarios, las partículas del virus contienen por lo general la cadena positiva. En los virus bicatenarios, el genoma está constituido por una cadena positiva y otra negativa. Los retrovirus se componen de dos cadenas idénticas, que están invertidas (dímero invertido).

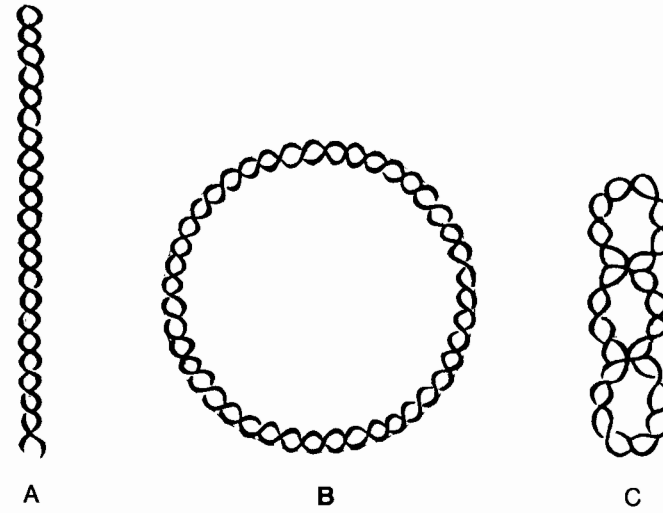


Fig. 53-12. Acido nucleico bicatenario (ADN). A) Forma lineal. B) Forma circular plana. C) Forma circular hiperenrollada.

6. El ácido nucleico es el soporte de la infecciosidad, pero las moléculas de ácido nucleico son muy frágiles, se fragmentan espontáneamente y pierden su actividad en poco tiempo. Sin embargo, en algunos virus de pequeño tamaño, como los poliovirus, que tienen una cadena corta de ARN con polaridad positiva que utilizan directamente como ARN mensajero, se ha podido obtener el ácido nucleico en estado de pureza, que es capaz de infectar los cultivos celulares y de reproducir la partícula completa del virus, en presencia de sustancias que lo protejan de las nucleasas bacterianas y de las presiones osmóticas elevadas y faciliten su penetración en la célula huésped. Sin embargo, en los virus ARN monocatenarios de polaridad negativa, el ácido nucleico en estado de pureza no presenta carácter infeccioso, a pesar de contener toda la información genética, ya que para su transcripción a ARN mensajero precisa una transcriptasa del virus sin cuya presencia la multiplicación no puede efectuarse.

7. Por último, no todas las partículas de virus contienen todo el ácido nucleico (genoma completo), sino que pueden observarse partículas desprovistas de ácido nucleico, cápsides vacíos, como ocurre en los mixovirus, partículas con genoma incompleto y aun partículas que contienen varias copias del genoma (paramixovirus). Pero, además, algunas familias de virus pueden incorporar a su genoma parte del ácido nucleico de la célula huésped, que puede ser ADN, como ocurre en los papovavirus, o ARN (ribosomas celulares), como en los arenavirus.

Proteínas

Constituyen cuantitativamente la fracción más importante de los virus (50-90 %) y pueden contener según su tamaño y complejidad de 2 a 30 polipéptidos diferentes. Se pueden considerar en el virión:

Proteínas de superficie

Comprenden las proteínas que forman el cápside (capsómeros) y las proyecciones de la envoltura (peplómeros).

1. En los virus de simetría icosaédrica, los capsómeros están compuestos por 1 a 6 moléculas de polipéptidos de la misma clase (homopolímeros) o diferente (heteropolímeros), que se agrupan para constituir el cápside, el cual tiene una forma de caja o recipiente. En los virus con simetría helicoidal, las subunidades morfológicas están constituidas por una sola proteína (protómeros) y el cápside tiene una forma de matriz que encierra el ácido nucleico. Estas formas de agrupación de las proteínas son muy especiales, pues hacen que los virus sean resistentes a la digestión por las enzimas proteolíticas.
2. Las proteínas de la envoltura o peplómeros están compuestas por glicoproteínas y pueden presentar actividades biológicas diversas (hemaglutinina, neuraminidasa). También se encuentran proteínas procedentes de la célula huésped.

Proteínas internas

Pueden presentarse como proteínas estructurales:

1. En la capa interna de la envoltura (proteína M).
2. En una o varias capas concéntricas de capsómeros situados debajo del cápside (cápside interno).
3. En la parte central del virión, íntimamente asociadas con el ácido nucleico y compuestas por polipéptidos básicos de tipo histona.

También pueden encontrarse como proteínas no estructurales, en especial como enzimas no metabólicas que contienen algunos virus y cuyo ejemplo más demostrativo son las transcriptasas asociadas al nucleocápside.

Estas proteínas, en especial las superficiales, presentan una gran variedad de propiedades:

1. Constituyen un mecanismo de protección del ácido nucleico frente a las influencias adversas, en especial de las nucleasas bacterianas y hemáticas, y de las presiones osmóticas elevadas.
2. Presentan una especial afinidad por los receptores de superficie de las células susceptibles, lo que determina la capacidad de fijación y penetración del virus en las células y, por tanto, sus tropismos celulares y tisulares.
3. Presentan capacidad antigénica. A este respecto, las proteínas de superficie tienen un fuerte poder inmunógeno, pues inducen la aparición de anticuerpos neutralizantes, que presentan carácter protector y son responsables de los fenómenos de inmunidad adquirida. Las proteínas internas, por el contrario, son menos inmunógenas y sus anticuerpos no presentan acción neutralizante ni protectora, y no intervienen en la inmunidad.
4. Intervienen en la clasificación de los virus, pues, según su complejidad y el número de polipéptidos que contienen, permiten distinguir los virus en diferentes grupos y, aun dentro de un mismo grupo, clasificar los virus en tipos antigénicos o serotipos.

Glúcidos y lípidos

Además de los ácidos nucleicos y proteínas, algunos virus pueden contener pequeñas cantidades de glúcidos y lípidos. Algunas veces son de origen celular. Así, los virus que presentan envoltura, derivada generalmente de la membrana citoplásmica y menos veces de la membrana nuclear de la célula infectada, pueden contener lípidos o glicolípidos de origen celular. Por esto, diferentes virus pueden presentar los mismos lípidos si se desarrollan en el mismo tipo de células, mientras que una misma especie de virus puede presentar lípidos diferentes según la clase de célula donde se ha desarrollado. Una característica general de los virus con envoltura es que son sensibles a los disolventes de los lípidos, como éter, cloroformo y sales biliares.

Pero, además, algunos virus pueden contener pequeñas cantidades de lípidos de origen viral (poxvirus) y de glúcidos específicos del virus, especialmente en las proyecciones de la envoltura, constituidos por glicoproteínas (mixovirus).

ACCION DE LOS AGENTES FISICOS Y QUIMICOS

Los agentes que producen la inactivación de los virus actúan directamente sobre sus componentes, en especial sobre las proteínas, lípidos o ácido nucleico del virión.

Agentes físicos

Temperaturas de 56 a 65 °C mantenidas durante 1 hora inactivan la mayoría de virus, pues desnaturalizan las proteínas del cápside y de la membrana e inhiben la fijación y descapsidación del virión. Sin embargo, existen excepciones, como los virus de la hepatitis B, los virus adenoasociados y los viroides resistentes a estas temperaturas. La esterilización por autoclave (30 min a 120 °C) o por calor seco (1 hora a 160 °C) destruye todos los virus.

A temperaturas más bajas e incluso a temperatura ambiente, los virus también pueden perder su capacidad infectiva, aunque más lentamente, según la velocidad de inactivación de las diferentes especies de virus. Los paramixovirus resisten algunas horas a temperatura ambiente, mientras que los virus de la hepatitis y los poxvirus durante meses. Por ello, la conservación de los virus debe efectuarse a temperaturas bajas o por liofilización.

En general, los virus pueden conservarse:

1. A + 4 °C (temperaturas de subcongelación, frigorífico ordinario) durante 1-2 días.
2. A – 30 °C (temperaturas de congelación del congelador casero) durante algunos días, y los virus más resistentes (enterovirus) durante largo tiempo.
3. A – 70 °C (temperatura de congelación de la nieve carbónica) durante meses.
4. A – 196 °C (temperatura de congelación del nitrógeno líquido) durante años.

Para evitar las pérdidas de infectividad durante la conservación, se aconseja proceder a una congelación rápida de la suspensión vírica, en un medio que contenga sustancias protectoras, como proteínas (suero, caldo, leche) o, aun mejor, dimetilsulfóxido al 5 %.

Por otra parte, se ha observado que ciertas sales a concentraciones molares (Cl_2Mg, SO_4Mg y SO_4Na_2) presentan una acción estabilizadora sobre algunas suspensiones de virus, de manera que resisten temperaturas de 50 °C durante

1 hora sin pérdida de infectividad, lo que es muy importante en la preparación de vacunas atenuadas, pues permite prolongar el período de validez de la vacuna en condiciones normales. Así, la vacuna de la poliomielitis con virus atenuados tipo Sabin necesita mantenerse a temperaturas de congelación para conservar su potencia, pero, si al medio de suspensión se añaden concentraciones molares de Cl_2Mg, puede conservarse durante 12 meses en el frigorífico y pocos días a temperatura ambiente, aun en épocas y países con temperaturas ambientales elevadas.

La mayoría de virus pueden conservarse por liofilización, es decir, por deshidratación en el vacío, a partir de la suspensión congelada. Los virus que resisten la congelación pueden conservarse liofilizados durante mucho tiempo a temperatura ambiente y, prácticamente de forma indefinida, a 4 °C.

Las radiaciones, tanto los rayos ultravioleta como las radiaciones ionizantes (rayos X, radiaciones γ), inactivan los virus, porque producen alteraciones en la cadena de nucleótidos (roturas, formación de dímeros). Los virus con un ácido nucleico monocatenario son los más sensibles, mientras que los virus lentos son los más resistentes.

Desinfectantes y antisépticos

Los virus con envoltura de naturaleza lipoproteica (herpesvirus, ortomixovirus, paramixovirus, rabdovirus, coronavirus, oncornavirus, arenavirus y togavirus) se inactivan con facilidad por los disolventes de las grasas, como el éter, cloroformo, desoxicolato sódico y detergentes aniónicos. La sensibilidad al éter es una prueba preliminar en la identificación de los virus aislados de un enfermo, que se realiza para conocer la presencia o ausencia de envoltura. Por otra parte, la sensibilidad al desoxicolato sódico explica que dichos virus se inactiven por la bilis y por lo general no sean infectivos por vía digestiva.

Los virus desnudos son resistentes a la mayoría de desinfectantes que se emplean para las bacterias, pero, en cambio, son sensibles a la acción: *a)* de los agentes oxidantes (hipocloritos, yodóforos), que a concentraciones elevadas, 1.000 ppm, inactivan la mayoría de virus, incluso los de la hepatitis; *b)* del formol, que, por no alterar las propiedades antigénicas, se emplea en la preparación de vacunas, y *c)* del glutaraldehído y de los ácidos, en especial el ácido clorhídrico diluido, aunque existen virus acidorresistentes, como los enterovirus. En el momento actual no se conoce ningún desinfectante de la piel, o antiséptico, que sea eficaz sobre los virus.

En la desinfección ambiental hay que tener presente que la eficacia del cloro depende de la cantidad de materia orgánica; por esto, se aconseja aumentar las dosis de cloro en las estaciones de depuración de aguas potables y en la desinfección de productos patológicos que la contienen en abundancia (orina, heces, exudados) o sustituir el cloro por el formol o el ácido clorhídrico diluido.

Los antibióticos que se emplean en el tratamiento de las infecciones bacterianas no son eficaces sobre los virus; sólo, los antibióticos que interfieren en la síntesis de los ácidos nucleicos ARN y ADN podrían inhibir el mecanismo de replicación de los virus, pero, como también interfieren en el metabolismo de la célula huésped, son demasiado tóxicos para ser empleados en el tratamiento de las virosis humanas. Sólo la rifampicina parece que inhibe la replicación de los poxvirus.

CLASIFICACION

Durante mucho tiempo, los virus se han clasificado atendiendo al huésped en que se desarrollan, a sus tropismos tisulares, a su epidemiología o a los cuadros clínicos que producen, siempre muy diversos. Pero a medida que se ha progresado en el conocimiento de su estructura y composición química, se ha podido elaborar una clasificación más racional, basada en sus propiedades físico-químicas, que el Comité Internacional de Taxonomía ha ido perfeccionando progresivamente.

Según el huésped

Atendiendo al huésped en que se desarrollan, se pueden establecer cuatro grandes grupos de virus (taxa) según afecten específicamente a los vertebrados, los invertebrados, las plantas o las bacterias, y debe añadirse un quinto grupo para aquellos virus capaces de afectar más de una clase de huésped.

Epidemiológica

Según la vía y mecanismo de transmisión se pueden dividir en:

Virus respiratorios

Aquellos que ingresan y se desarrollan primariamente en las vías respiratorias. Comprenden un amplio grupo de virus, en el que se incluyen no sólo los virus que ejercen una acción patógena exclusiva en el aparato respiratorio (ortomixovirus, paramixovirus, coronavirus y rinovirus), sino, además, aquellos que son capaces de multiplicarse y ejercer su acción patógena en otros tejidos (adenovirus, enterovirus, reovirus).

Virus entéricos

Aquellos que ingresan y se desarrollan primariamente en el tubo digestivo. Comprenden los enterovirus, adenovirus, reovirus y virus de la hepatitis.

Arbovirus

Virus que afectan a diversas especies de animales y también al hombre y se caracterizan en que en su transmisión intervienen diversos artrópodos hematófagos. Comprenden las familias de los togavirus, bunyavirus, rabdovirus y el género orbivirus de los reovirus.

Clínica

Se dividen según que produzcan infecciones generalizadas o localizadas, y, en este caso, según el órgano o sistema

predominantemente afectados, como el sistema nervioso central, aparato respiratorio, piel, mucosas, conjuntiva, hígado y glándulas salivales.

Físico-química

Esta clasificación se basa en las características del virión, ácido nucleico y proteínas del cápside.

1. En el *virión* se consideran su morfología y estructura, en especial la forma y tamaño, la presencia de envoltura, la simetría del cápside, el número de capsómeros y el diámetro de la espiral de ribonucleoproteínas.
2. En el *ácido nucleico* se tiene en cuenta el tipo de ácido nucleico, peso molecular, continuo o segmentado, polaridad, presencia de transcriptasas y mapa de polinucleótidos.
3. En las *proteínas del cápside* se considera su número, mapa peptídico y propiedades antigénicas.

En esquema, los virus se han clasificado en dos grandes grupos atendiendo el tipo de ácido nucleico que presentan (virus ADN y ARN), y cada grupo se ha dividido en familias y subfamilias según la morfología del virión y los caracteres del ácido nucleico y proteínas. Las familias se han dividido a su vez en géneros según sus propiedades antigénicas y otras características. Se ha llegado al acuerdo de adoptar nombres latinos para las familias, subfamilias y géneros con la terminación *viridae*, *virinae* y *virus*, respectivamente. Dentro de los géneros, los virus pueden considerarse como especies, pero en espera de la decisión del Comité de Taxonomía se ha considerado que por el momento conserven su denominación tradicional.

A continuación se expone la clasificación y nomenclatura de los virus que afectan al hombre, de acuerdo con las conclusiones adoptadas en el IV Informe del Comité Internacional de Taxonomía de Virus (1982) (tablas 53-3 y 53-4). Además, se incluyen dos nuevas familias que han sido propuestas al Comité: *Hepadnaviridae*, que comprende el virus de la hepatitis B y tres nuevos virus animales, y *Filoviridae*, que comprende los virus Marburg y Ebola.

CULTIVO DE LOS VIRUS

Los virus sólo se desarrollan en el interior de células vivas. Para su aislamiento y cultivo se han utilizado diversos procedimientos.

Animales de experimentación

La inoculación de virus en los animales de experimentación puede producir una enfermedad con lesiones características, que se puede transmitir en serie, y es el método más antiguo para aislar y conservar los virus. Los poliovirus por inoculación intracerebral al mono pueden producir un cuadro paralítico y el virus de la gripe por instilación nasal al hurón, un cuadro febril benigno. Pero debido a su elevado costo, a la presencia de virus latentes y por presentar dichos animales una respuesta inmunitaria, los métodos de inoculación se emplean cada vez menos y quedan reducidos a la inoculación intracerebral de ratones adultos y lactantes para el aislamiento del virus de la rabia, togavirus y algunos virus Coxsackie A. Sin embargo, los animales se utilizan en investigaciones experimentales sobre virus oncógenos, sobre la patogenia e inmunidad de las virosis y para la obtención de antisueros.

Huevos embrionados

Presentan la ventaja de ser animales bacteriológicamente estériles, con escaso riesgo de virus latentes y sin producir respuesta inmunitaria. Los virus se pueden inocular (fig. 53-13) en la cavidad alantoidea (virus de la gripe), y es posible obtener así el crecimiento en toda la membrana corioalantoidea, en la cavidad amniótica, o sea directamente en las vías respiratorias del embrión (virus de la gripe y de la parotiditis), o en el saco vitelino (virus del herpes). Para esto se practica un agujero en la cáscara de huevos embrionados de 7 a 14 días de incubación y se inyecta el inóculo en el líquido que baña la membrana que se desea infectar. El desarrollo del virus se manifiesta por la muerte del embrión (virus de la parotiditis y del herpes) o la producción de hemaglutininas (ortomixovirus). También pueden inocularse directamente en la membrana corioalantoídea (figura 53-14) y detectarse su desarrollo por la aparición de lesiones características (*pocks*), como ocurre en los poxvirus y herpesvirus (fig. 53-15). En la actualidad, el empleo de huevos embrionados ha quedado limitado al cultivo de los poxvirus y sobre todo del virus de la gripe (ortomixovirus), tanto para su aislamiento como para la producción de vacunas.

Cultivos tisulares

Aunque los cultivos de tejidos o de células se conocen desde hace tiempo, no han podido utilizarse de manera sistemática para el desarrollo de los virus, hasta el descubrimiento de los antibióticos que han permitido evitar las contaminaciones bacterianas.

Las células pueden cultivarse a partir de fragmentos de tejidos o «explantes» (cultivos tisulares), de células aisladas o disociadas (cultivos celulares) o de cortes de órganos que conservan su arquitectura (cultivos de órganos). En la actualidad, los cultivos celulares constituyen el método de elección para el desarrollo de la mayoría de virus, y se utilizan los cultivos de órganos para el aislamiento de virus de difícil desarrollo o en casos especiales.

Cultivos celulares

El descubrimiento efectuado por Enders de que los virus eran capaces de desarrollarse en cultivos de células aisladas o disociadas ha constituido el método fundamental para el desarrollo de los virus.

Los cultivos de células aisladas en medios artificiales son muy inestables, de manera que los *cultivos primarios* de células animales, al cabo de pocos pases o cultivos secundarios, rápidamente mueren. En ocasiones pueden seleccionarse células que conservan su morfología, carácter diploide, y mantienen su capacidad de crecimiento, lo que permite obtener una *cepa de células diploides*, que al cabo de un

Tabla 53-3. Clasificación y principales propiedades físico-químicas de los virus

Acido nucleico	Envoltura, sensibilidad al éter	Genoma: Polaridad	Genoma: Segmentación	Genoma: PM (10^6 daltons)	Cápside: Simetría	Cápside: Capsómero (c) o diámetro del hélix (nm)	Cápside: N.º de proteínas	Virión: Forma	Virión: Tamaño (nm)	Familia
ADN	Sí	±	No	85-240	Compleja	–	30	Cuadrangular	230-300	*Poxviridae*
ADN	Sí	±	No	80-150	Icosaédrica	162 c	20	Esférica	100	*Herpesviridae*
ADN	No	±	No	20-25	Icosaédrica	252 c	10	Esférica	70-90	*Adenoviridae*
ADN	No	±	No	3-5	Icosaédrica	172 c	5-7	Esférica	45-55	*Papovaviridae*
ADN	No	±	No	1,6	Icosaédrica	?	?	Esférica	40-50	*[Hepadnaviridae]*
ADN	No	+ o –	No	1,5-2	Icosaédrica	32 c	3	Esférica	18-26	*Parvoviridae*
ARN	No	±	Sí	12-20	Icosaédrica	32 c, 92 c	6-10	Esférica	60-80	*Reoviridae*
ARN	No	+ (infec.)	No	2,3-2,8	Icosaédrica	32 c (60 sub.)	4	Esférica	24-30	*Picornaviridae*
ARN	No	+ (infec.)	No	2,6	Icosaédrica	32 c	3	Esférica	35-39	*Caliciviridae*
ARN	Sí	–	Sí	45	Helicoidal	9-15 nm	7-10	Esf. o fil.	80-120	*Orthomyxoviridae*
ARN	Sí	–	Sí	6-7	Helicoidal	10-12 nm	3-5	Esférica	80-110	*Bunyaviridae*
ARN	Sí	–	Sí	3-5	¿Helicoidal?	¿9-15 nm?	3	Pleomórfica	50-300	*Arenaviridae*
ARN	Sí	–	No	5-8	Helicoidal	12-18 nm	5-7	Esférica o filamentosa	150-300	*Paramyxoviridae*
ARN	Sí	–	No	3,5-4,6	Helicoidal	18 nm	4-5	Bala	70-180	*Rhabdoviridae*
ARN	Sí	–	No	4,2	Helicoidal	¿20 nm?	¿5?	Filamentosa	80 × 800-1.000	*[Filoviridae]*
ARN	Sí	+	No	4	Icosaédrica	32-42 c	3-4	Esférica	40-70	*Togaviridae*
ARN	Sí	+	No	5-6	Helicoidal	11-13 nm	4-6	Esférica	80-130	*Coronaviridae*
ARN	Sí	+	No	6-7	Cápside icosaédrico RNP helicoidal		7-8	Esférica	80-100	*Retroviridae*

(Dímero invertido. Paso a ADN en replicación)

BC: ácido nucleico bicatenario; MC: ácido nucleico monocatenario. Los orthopoxvirus y hepadnavirus presentan envoltura y son resistentes al eter. Entre paréntesis, las nuevas familias que han sido propuestas al Comité Internacional de Taxonomía.

Tabla 53-4. Clasificación de los virus en familias, géneros y especies

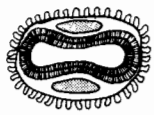
Familia	Subfamilias y/o géneros	Especies
Poxviridae	Subf. *Chordopoxvirinae*	
	*Orthopoxvirus*	Virus de la vacuna, de la viruela humana, bovina, del alastrim, del camello, búfalo, conejo, mono y ratón (ectromelia)
	Parapoxvirus	Virus del nódulo de los ordeñadores, virus Orf o de la dermatitis pustular de las ovejas
	Avipoxvirus	Virus de la viruela aviar
	Capripoxvirus	Virus de la viruela caprina
	Leporipoxvirus	Virus del mixoma
	Suipoxvirus	Virus de la viruela porcina
	Subf. *Entomopoxvirinae*	Virus de los insectos, especialmente coleópteros, dípteros y lepidópteros
		Virus del *molluscum contagiosum* (pertenece a la familia *Poxviridae*, huésped vertebrado, sin incluirse en ningún género)
Herpesviridae	Subf. *Alphaherpesvirinae*	Tipo 1, virus herpes labial
		Tipo 2, virus herpes genital
		Tipo 3, virus de la varicela y herpes zoster
	Subf. *Gammaherpesvirinae*	Tipo 4, virus de Epstein-Barr
	Subf. *Betaherpesvirinae*	Tipo 5, citomegalovirus
		H. animales (virus de la enfermedad de Marek de las aves, virus de Luke de las ranas, etc.)
Adenoviridae	*Mastadenovirus*	Adenovirus humanos (34 tipos); adenovirus de los monos y otros animales
	Aviadenovirus	Adenovirus aviares
Papovaviridae	*Papillomavirus*	Virus de la verruga simple, virus del condiloma
	Polyomavirus	Virus SV40 del mono, virus del polioma del ratón y virus BK y JC del hombre
Hepadnaviridae (nueva familia propuesta)	*Hepadnavirus*	Virus de la hepatitis B del hombre y virus semejantes de la hepatitis de animales (patos, espermófilos y marmotas)
Parvoviridae	*Parvovirus*	Parvovirus animales, virus grupo Norwalk
	Densovirus	Parvovirus de invertebrados
	Dependovirus	Virus adenoasociados (4 tipos)
Picornaviridae	*Enterovirus*	Enterovirus humanos
		Poliovirus 3 (1, 2, 3)
		Virus Coxsackie A 23 (1-22 y 24)
		Virus Coxsackie B 6 (1-6)
		Virus Echo 31 (1-9, 11-27, 29-33)
		Enterovirus 68-71
		Enterovirus 72 (virus de la hepatitis A)
		Enterovirus animales
	Cardiovirus	Virus encefalomiocardíticos (EMC), virus Mengo
	Rhinovirus	Rinovirus humanos 1-113
		Rinovirus bovinos
	Aphtovirus	Virus de la fiebre aftosa
Caliciviridae	*Calicivirus*	Calicivirus animales y humanos. Probable miembro: virus Norwalk de la gastroenteritis humana
Reoviridae	*Reovirus*	Reovirus humanos, tipos 1, 2 y 3, reovirus caninos, aviares y de los monos
	Orbivirus	Subgrupo de la fiebre por garrapata del Colorado, Kemerova, etc.
	Rotavirus	Rotavirus humanos y animales
Togaviridae	*Alphavirus*	Virus de las encefalitis equinas (oriental, occidental y de Venezuela)
		Virus Chikungunya, Semliki, Ross River, Mayaro, Sindbis O'nyong-nyong, etc. (hasta 25 virus)
	Flavivirus	Virus de la encefalitis japonesa B, de San Luis y del Valle de Murray, fiebre del Nilo Occidental
		Virus del dengue 1-4
		Virus de la fiebre amarilla y virus aislados de mosquitos (hasta 28 virus)
		Virus louping-ill, virus de la encefalitis por garrapatas de Europa Central y Siberia, encefalitis de Powassan y fiebre de Kyasanur Forest y de Omsk (hasta 11 virus)
	Rubivirus	Virus de la rubéola
	Pestivirus	Virus de la enfermedad mucosa o diarrea de los bóvidos y de la peste porcina

Tabla 53-4. *(Continuación.)*

Familia	Subfamilias y/o géneros	Especies
Bunyaviridae	*Bunyavirus*	16 grupos y 145 virus (grupo Bunyamwera, Bwamba, Guama, La Crosse, California, Simbu, etc.)
	Phlebovirus	1 grupo y 30 virus (virus de la fiebre por *Phlebotomus*, virus de la fiebre del Valle del Rift)
	Nairovirus	6 grupos y 27 virus (virus de las fiebres hemorrágicas de Crimea-Congo)
	Uukuvirus	1 grupo y 7 virus (virus de Uukuniemi, virus de Grand Arbaud)
	Hantaanvirus	Virus de la fiebre hemorrágica con síndrome renal de Corea
Arenaviridae	*Arenavirus*	Virus de la coriomeningitis linfocitaria benigna, virus de la fiebre hemorrágica de Lassa y el complejo Tacaribe, especialmente el virus de Junin, de la fiebre hemorrágica de Argentina, virus de Machupo de la fiebre hemorrágica boliviana y el virus de la fiebre hemorrágica con síndrome renal de la URSS y Corea
Orthomyxoviridae	*Influenzavirus*	Virus de la gripe tipos A y B. El tipo A se ha clasificado en 21 subtipos (12H y 9N), que pueden afectar al hombre, mamíferos (caballo, cerdos) y diversas especies de aves
	Influenzavirus tipo C (probable género)	Virus de la gripe tipo C
Paramyxoviridae	*Paramyxovirus*	Virus parainfluenza tipos 1, 2, 3 y 4 de la parotiditis y de la enfermedad de Newcastle
	Morbillivirus	Virus del sarampión, del moquillo del perro y de la peste bovina
	Pneumovirus	Virus respiratorio sincitial
Coronaviridae	*Coronavirus*	Coronavirus humanos (varios tipos), coronavirus animales (virus de la bronquitis infecciosa de las aves, de la diarrea neonatal de las terneras, de la hepatitis murina, de la gastoenteritis porcina, etc.)
Rhabdoviridae	*Vesiculovirus*	Virus de la estomatitis vesicular del caballo
	Lyssavirus	Virus de la rabia
	–	Virus de las plantas
Filoviridae (familia propuesta)	–	Virus Marburg y Ebola
Retroviridae	Subf. *Oncovirinae*	
	Oncovirus tipo C	Virus de las leucemias y sarcomas del ratón, gatos, bóvidos y primates
		Virus HTLV-I y II de la leucemia de las células T humanas
	Oncovirus tipo B	Virus del tumor mamario del ratón
	Oncovirus tipo D	Virus del tumor mamario del *M. rhesus* (Masson-Pfizer)
	Subf. *Lentivirinae*	Virus lentos del cordero (grupo de Maedi-Visna). Virus VIH del SIDA
	Subf. *Spumovirinae*	Virus espumoso o vacuolizante humano y animal, virus sincitial de los animales

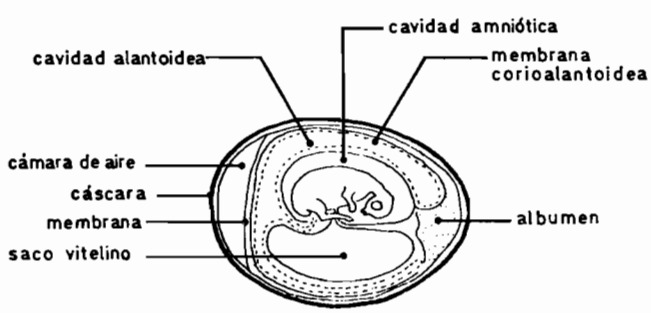


Fig. 53-13. Huevo embrionado. Sección longitudinal.

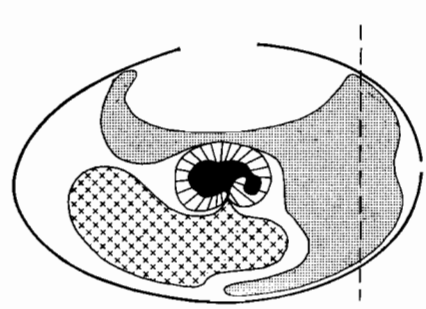


Fig. 53-14. Huevo embrionado. Creación de una cámara de aire artificial, con una amplia superficie de inoculación en la membrana corioalantoidea.

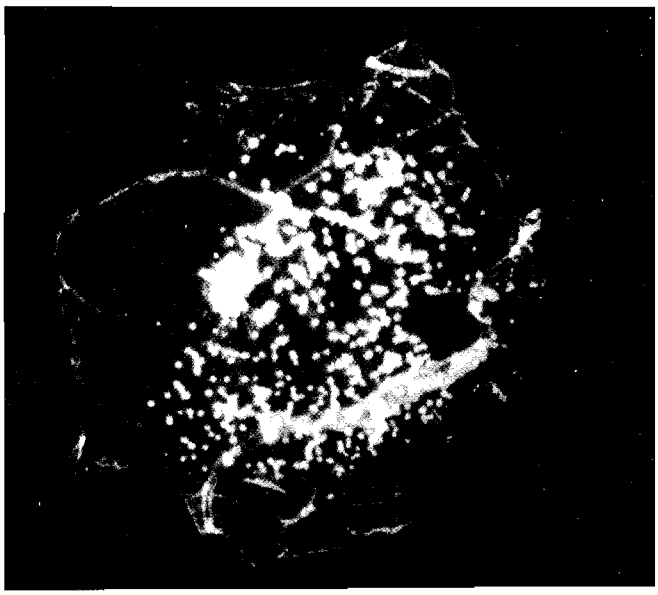


Fig. 53-15. Membrana corioalantoidea. Lesiones (*pocks*) producidas por el virus variólico.

número limitado de pases puede morir o dar lugar a algunas células muy alteradas en cuanto a morfología y dotación genética, que presentan la propiedad de crecer más rápidamente de manera continua y regular; son las *líneas celulares*. Estos tres tipos de cultivos celulares son los más utilizados en virología.

Cultivos celulares primarios. Consisten en el cultivo de células aisladas procedentes de tejidos normales. Si se tratan tejidos u órganos del hombre o del animal por tripsina, las células del tejido se separan o disgregan obteniéndose suspensiones de células aisladas, que, una vez lavadas y contadas, se pueden sembrar en tubos o matraces que contengan un medio de cultivo adecuado. Las células sedimentan, se adhieren al vidrio y se multiplican (alrededor de una división diaria) formando islotes de crecimiento que se extienden progresivamente hasta que entran en contacto, momento en el que se inhibe su crecimiento (fenómeno de inhibición por contacto), y una capa monocelular en la pared del tubo o matraz, que constituye el sustrato sobre el que se desarrollan los virus. Los cultivos se mantienen cambiando el medio dos o tres veces por semana y, cuando están muy desarrollados, obteniendo células aisladas por tratamiento del cultivo con tripsina, lo que permite iniciar un nuevo pase (cultivo secundario). Las células son de dos tipos, poligonales de tipo epitelial o alargadas de tipo fibroblástico (que crecen en haces paralelos), y su capacidad de multiplicación es muy limitada. Los cultivos de células de riñón de mono (fig. 53-16) y de diversas células embrionarias (fibroblastos de embrión de pollo, células renales de embrión humano y células amnióticas humanas) son los más empleados.

Es el método más costoso, pero las células presentan un amplio espectro de sensibilidad.

Cepas de células diploides. Posteriormente se demostró la posibilidad de adaptar al cultivo seriado *in vitro* células diploides normales. Se observó que el cultivo de tejidos embrionarios humanos permitía seleccionar en algunos casos cepas de fibroblastos que podían multiplicarse durante 50-100 pases, sin perder su carácter diploide, es decir, conservando su cariotipo normal. Su sensibilidad a los virus es mayor que la de las células adaptadas (cepas WI-38 y MRC-5) (fig. 53-17).

Presentan la ventaja de no llevar virus latentes, como las células primarias de origen animal, ni estar infectadas por micoplasmas, como las células de línea continua. Se emplean para el aislamiento de los virus de la varicela, rinovirus, citomegalovirus, etc.

Líneas celulares. En el curso del tiempo se ha conseguido adaptar células al cultivo indefinido *in vitro*, de manera que se pueden pasar de tubo a tubo de cultivo, sin tener que recurrir al tejido u órgano del que proceden (fig. 53-18). Las células adaptadas han experimentado una mutación en virtud de la cual presentan caracteres semejantes, cualquiera que sea su procedencia. Son de aspecto epitelial, su dotación de cromosomas es variable (aneuploide) y su sensibilidad a los virus está muy limitada (poliovirus, virus Coxsackie B, adenovirus, virus respiratorio sincitial, de la rubeola y del herpes).

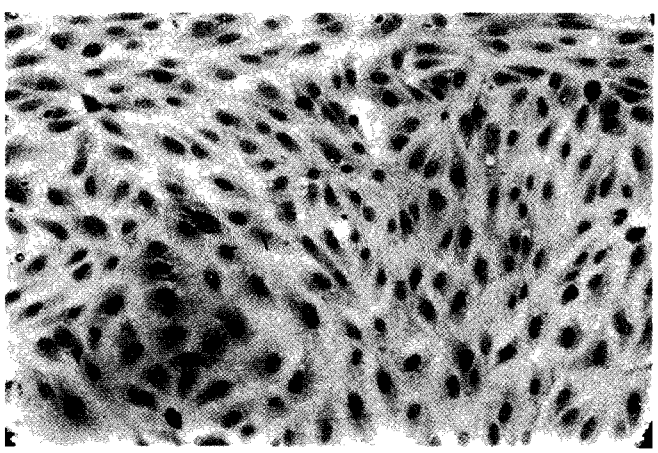


Fig. 53-16. Células primarias. Cultivo de células de riñón de mono.

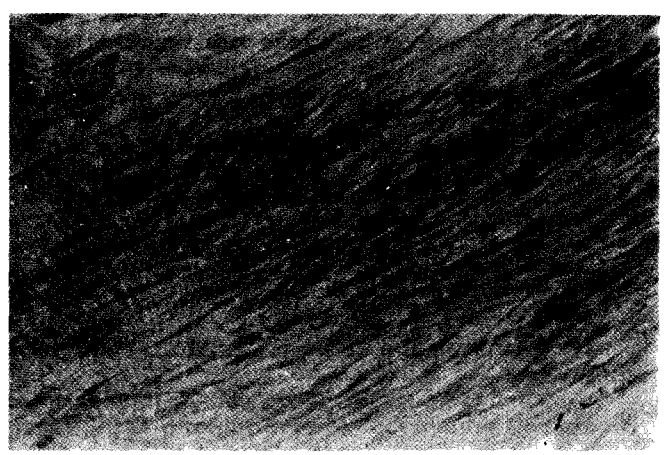


Fig. 53-17. Células diploides. Cultivo de la cepa WI-38.

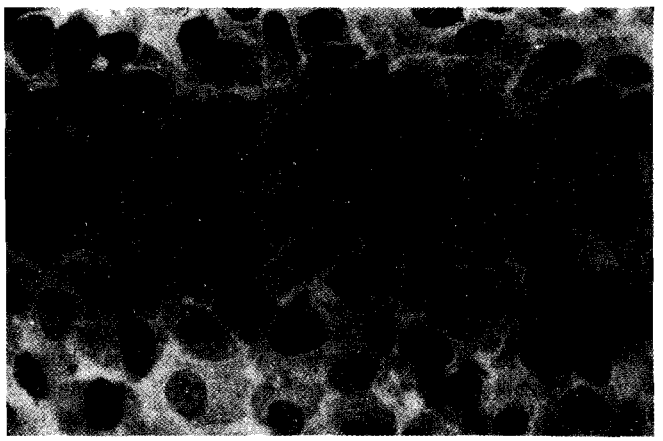


Fig. 53-18. Células de línea. Cultivo de células HeLa.

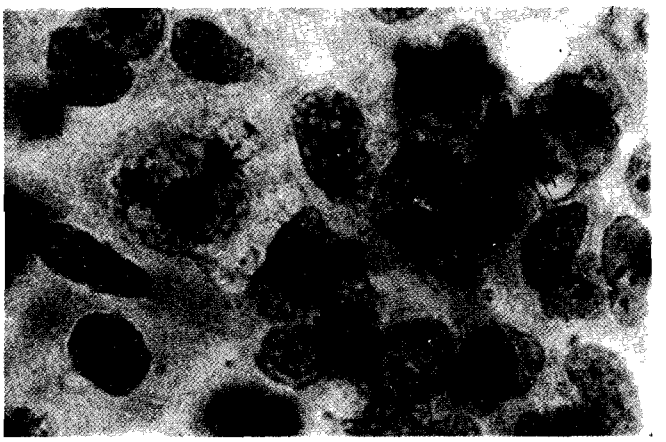


Fig. 53-19. Alteraciones citopáticas nucleares. Cultivo de adenovirus tipo 2 en células HeLa.

En la actualidad existen numerosas líneas de células adaptadas que pueden proceder de células neoplásicas (cepas HeLa*, KB, HEp-2) o normales, como las líneas de células renales de mono (Vero, LLC-MK2), hámster (BHK-21) y conejo (RK-13).

Cultivos de órganos

Recientemente para el aislamiento de algunos virus de difícil cultivo se han utilizado cultivos de órganos. Son cortes de órganos embrionarios, que en un medio adecuado pueden mantener su estructura y funciones durante un corto período de tiempo. Se han empleado cultivos de tráquea embrionaria para el aislamiento de coronavirus y otros virus respiratorios y de intestino embrionario para los coronavirus intestinales y algunos rotavirus.

Detección del desarrollo de los virus

La multiplicación en cultivos celulares puede reconocerse por manifestaciones diversas:

1. Por su *acción citopática*, los virus pueden producir diversas alteraciones de las células y del cultivo monocelular, que muchas veces son características. A nivel celular se pueden observar: alteraciones nucleares (fig. 53-19) (adenovirus, herpesvirus), citoplásmicas (fig. 53-20) (picornavirus, poxvirus) y de la envoltura, con fusión de las células vecinas, formación de sincitios o policariocitos (fig. 53-21) virus respiratorio sincitial y del sarampión) y la aparición de cuerpos de inclusión, que pueden acompañar o no las alteraciones anteriores.

En la capa monocelular se observa que las células alteradas se redondean y retraen, pueden llegar a despegarse del vidrio del tubo o matraz y su distribución puede ser difusa o en focos aislados. La observación de estas lesiones puede efectuarse ya en fresco en el propio tubo o matraz de cultivo celular o en preparaciones teñidas en tubos de Leighton que contienen cubreobjetos, proporcionando datos de interés para la identificación de los virus.

*De Henrietta Lacks.

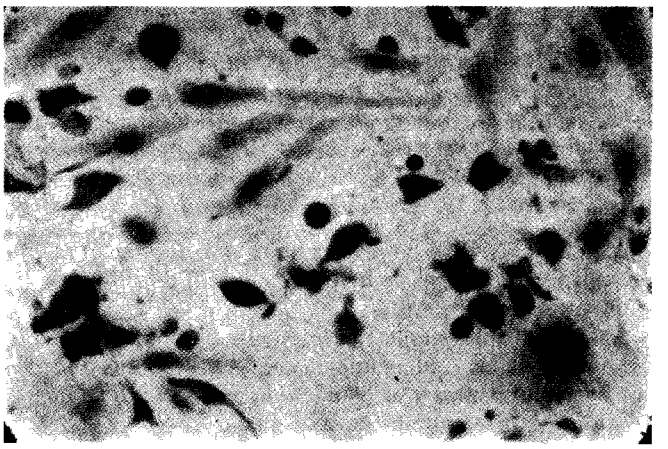


Fig. 53-20. Alteraciones citopáticas citoplásmicas. Cultivo de poliovirus en células de riñón de mono.

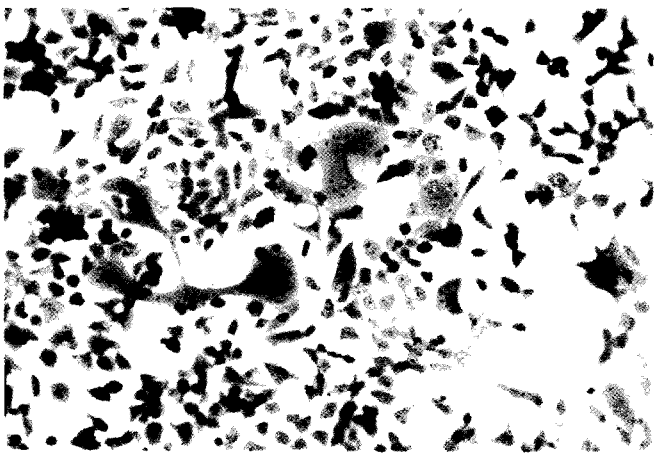


Fig. 53-21. Alteraciones citopáticas de la membrana. Fusión celular y formación de células gigantes. Cultivo de virus respiratorio sincitial en células HeLa.

Fig. 53-22. Método para la demostración de placas. Infección mixta con poliovirus (placas grandes y circulares) y un virus Echo (placas pequeñas e irregulares). (Hsiug, G. D., y Horstmann, D. M.: Conn. Med., 25-403, 1961.)

2. Por la aparición de componentes del virus en el medio de cultivo, en especial de hemaglutininas o de antígenos fijadores del complemento.

3. Por hemadsorción o fijación de los glóbulos rojos en la membrana de las células infectadas. Se presenta con los virus hemaglutinantes y es debida a la presencia de la hemaglutinina en la membrana de las células.

4. Por inmunofluorescencia, detectando la presencia del virus o sus antígenos en las células mediante el empleo de un suero inmune marcado con sustancias fluorescentes.

5. Por interferencia. Las células infectadas pueden presentar un aspecto normal, pero no son sensibles a la superinfección por otro virus conocido, que produzca acción citopática; el primer virus bloquea el desarrollo del segundo virus e interfiere con él.

La multiplicación de los virus en cultivo de órganos se detecta en general por inmunofluorescencia (IF), microscopia electrónica (ME) o microscopia electrónica inmune (MEI), y, en casos especiales, como en los cultivos de tráquea embrionaria, por el cese del movimiento ciliar.

Método para la demostración de placas de destrucción celular. Consiste en preparar placas de Petri o matraces con un cultivo celular en monocapa, que se inocula con una suspensión diluida del virus, que se deja en contacto durante 1 hora para que se produzca la fijación del virus en las células. En una segunda fase se reemplaza el medio de cultivo líquido por medio sólido (agar), que asegure la supervivencia de las células, pero limite la difusión de la progenie del virus a las células vecinas. De esta manera, cada virión se multiplica y produce un pequeño foco o clon de células infectadas, que a los pocos días se observa a simple vista como un área o placa de destrucción celular. Este método se utiliza para aislar virus o mutantes de un cultivo mixto y efectuar estudios cuantitativos, de manera que la infectividad de una suspensión se pueda expresar en unidades formadoras de placas (PFU o *plaque forming units*) (figura 53-22).

MECANISMO DE REPLICACION

Los virus son parásitos intracelulares estrictos que dependen para su multiplicación de la célula huésped, que les suministra no sólo las sustancias básicas, sino, además, la energía y la mayoría de sistemas enzimáticos. Los virus no se multiplican por división directa, sino por un mecanismo de replicación, en virtud del cual el ácido nucleico del virus orienta el metabolismo de la célula hacia la formación de los diversos componentes del virus que se sintetizan de forma independiente y sólo al final del ciclo se integran para dar lugar al virión completo.

En el proceso de replicación se pueden diferenciar tres fases: infección, síntesis y liberación, cada una de las cuales consta a su vez de varias etapas (tabla 53-5).

Fase de infección

Para que se inicie la infección, es necesario que el ácido nucleico del virus y a veces otros componentes penetren en la célula y lleguen a los lugares adecuados para la biosíntesis, lo que supone las etapas de adsorción, penetración y liberación del ácido nucleico.

Adsorción

Representa la fijación o adherencia del virus en la membrana de la célula susceptible. Este fenómeno, aunque está en relación con factores inespecíficos que facilitan el contacto, como la concentración del virus y las condiciones iónicas del medio, depende fundamentalmente de factores específicos, sobre todo de la presencia de proteínas de fijación en la superficie del virus (*virus attachment proteins* o VAP) y de receptores específicos en la membrana de las células sensibles. En la superficie de algunos viriones se conoce la existencia de estructuras (proyecciones glicoproteicas en la envoltura de los mixovirus, fibras del pentón de

Tabla 53-5. Fases y etapas del proceso de replicación de los virus

Fases	Etapas
Infección	Adsorción Penetración Liberación del ácido nucleico
Síntesis	Transcripción en ARN mensajero precoz Traducción en proteínas precoces Replicación del ácido nucleico del virus Transcripción en ARN mensajero Traducción en proteínas tardías
Liberación	Maduración o integración Liberación del virión de la célula huésped

los adenovirus, capsómeros de los poliovirus), que condicionan su fijación en los receptores específicos de las células susceptibles (mucoproteínas para los mixovirus, lipoproteínas para los poliovirus), la cual explicaría la predilección de algunos virus por determinados tipos de células: los virus gripales por las células del epitelio respiratorio, los enterovirus por las células del epitelio intestinal y los herpesvirus tipo 2 por las células de la mucosa vaginal y del cuello del útero.

Penetración

En los virus animales, como la membrana celular es fina, por lo general penetra la partícula completa del virus, por diversos mecanismos:

1. Fusión de la envoltura del virus con la membrana citoplásmica de la célula en el momento de la fijación, que genera una abertura a través de la cual el nucleocápside del virus penetra en el citoplasma de la célula.
2. Pinocitosis o viropexis en los virus sin envoltura, cuando la zona de la membrana de la célula que ha fijado el virus se invagina y forma una vacuola, y el virus queda así incorporado al citoplasma de la célula.
3. Penetración directa o translocación a través de la membrana. Se ha demostrado en algunos casos: en los poliovirus, para la adsorción en los receptores de la célula es necesaria la partícula completa del virión, especialmente de la proteína del cápside VP4, pero poco después de la adsorción el virión sufre un cambio de conformación por pérdida de VP4, que genera una abertura del cápside, la cual facilita la penetración directa del ARN del virus a través de la membrana de la célula. Por otra parte, las células también pueden infectarse por ácido nucleico desnudo o purificado (ácido nucleico infeccioso), y en este caso la penetración no depende de la presencia de receptores específicos.

Por el contrario, en los virus bacterianos (fagos), como la pared celular de las bacterias es gruesa y resistente, se requieren estructuras especializadas, que por un mecanismo de microjeringa inyectan el ácido nucleico, y la cubierta proteica queda en el exterior.

Liberación del ácido nucleico

Después de la penetración, el virus debe ser transportado a los lugares de biosíntesis, a la vez que se desprende de su cubierta proteica protectora (envoltura, cápside) y libera el ácido nucleico, para que pueda expresar sus funciones, lo que efectúa por diversas vías y mecanismos.

En los ribovirus con envoltura que penetran por fusión, la liberación del ácido nucleico se produce simultáneamente en la membrana (paramixovirus). En los virus desnudos que penetran por pinocitosis, este proceso ocurre generalmente en el interior de las vesículas fagocíticas por la acción de enzimas lisosómicas de la célula o la síntesis de enzimas específicas del virus. En estos casos, el ácido nucleico liberado pasa a través de la membrana de la vesícula hasta alcanzar el lugar de síntesis. En los poxvirus (virus ADN que sintetizan el ácido nucleico en el citoplasma), las enzimas lisosómicas eliminan la envoltura liberando el core nucleoproteico en el citoplasma, junto con una transcriptasa que cataliza la síntesis del ARNm precoz, que a su vez codifica una enzima que descompone la nucleoproteína liberando el ADN del virus.

En los desoxirribovirus, como los adenovirus que pueden penetrar directamente o por pinocitosis, el virión, desprovisto del cápside externo, es transportado rápidamente por la red de microtúbulos del citoplasma hasta la membrana nuclear, el ADN penetra a través de los poros nucleares y el resto del cápside queda en la membrana; en otros casos (papovavirus), el virus llega a la membrana nuclear dentro de vesículas fagocíticas y se produce a continuación la fusión de la membrana de la vesícula con la nuclear, lo que permite la penetración del virión en el núcleo. Por último, en algunos casos no se produce la liberación total del ácido nucleico (reovirus).

Fase de síntesis

Una vez liberado el ácido nucleico, ya no es posible demostrar la presencia del virus en la célula como unidad infecciosa; es la fase de eclipse durante la cual se efectúa la biosíntesis de los componentes del nuevo virus.

Los virus se reproducen a partir de su ácido nucleico, que no sólo dirige su propia replicación, sino que, además, suministra la información necesaria para la síntesis de las diversas proteínas estructurales y no estructurales (enzimáticas) específicas del virus a través de la formación de un ARN mensajero (ARNm) específico del virus, utilizando para ello elementos preformados de la propia célula (enzimas, ARN de transferencia, ribosomas). La producción de este ARNm es el hecho fundamental de todo el proceso de síntesis, pues de esta forma se establece una vía entre el genoma del virus y la maquinaria biosintética de la célula, que permite orientar su metabolismo hacia la síntesis de los componentes del virus.

Esquemáticamente, el proceso de replicación se realiza en dos fases. En la primera, a partir del ácido nucleico del virus se produce un ARNm precoz, que suministra a los ribosomas la información para la síntesis de proteínas precoces específicas. Se sabe que en este proceso se transcriben pocos genes y se sintetizan proteínas de significación no bien conocida. En la segunda fase, el ácido nucleico del virus se replica y estas nuevas unidades son las que a través de un nuevo ARNm suministran a los ribosomas la información para la formación de proteínas tardías específicas del virus. En este caso se transcriben la mayoría de genes que transportan la información para la síntesis de las proteínas estructurales y enzimáticas del virus.

Ahora bien, en el proceso de síntesis, atendiendo al tipo de ácido nucleico del virus y al mecanismo de transcripción para formar el ARN mensajero, los virus se han podido clasificar en 6 clases (clasificación de Baltimore) (fig. 53-23).

Virus ADN

La mayoría de desoxirribovirus sintetizan su ADN en el núcleo de la célula y las proteínas en el citoplasma, a excepción de los poxvirus que sintetizan todos sus componentes en el citoplasma.

El mecanismo de transcripción y la formación del ARNm se efectúa utilizando como modelo el propio ácido nucleico

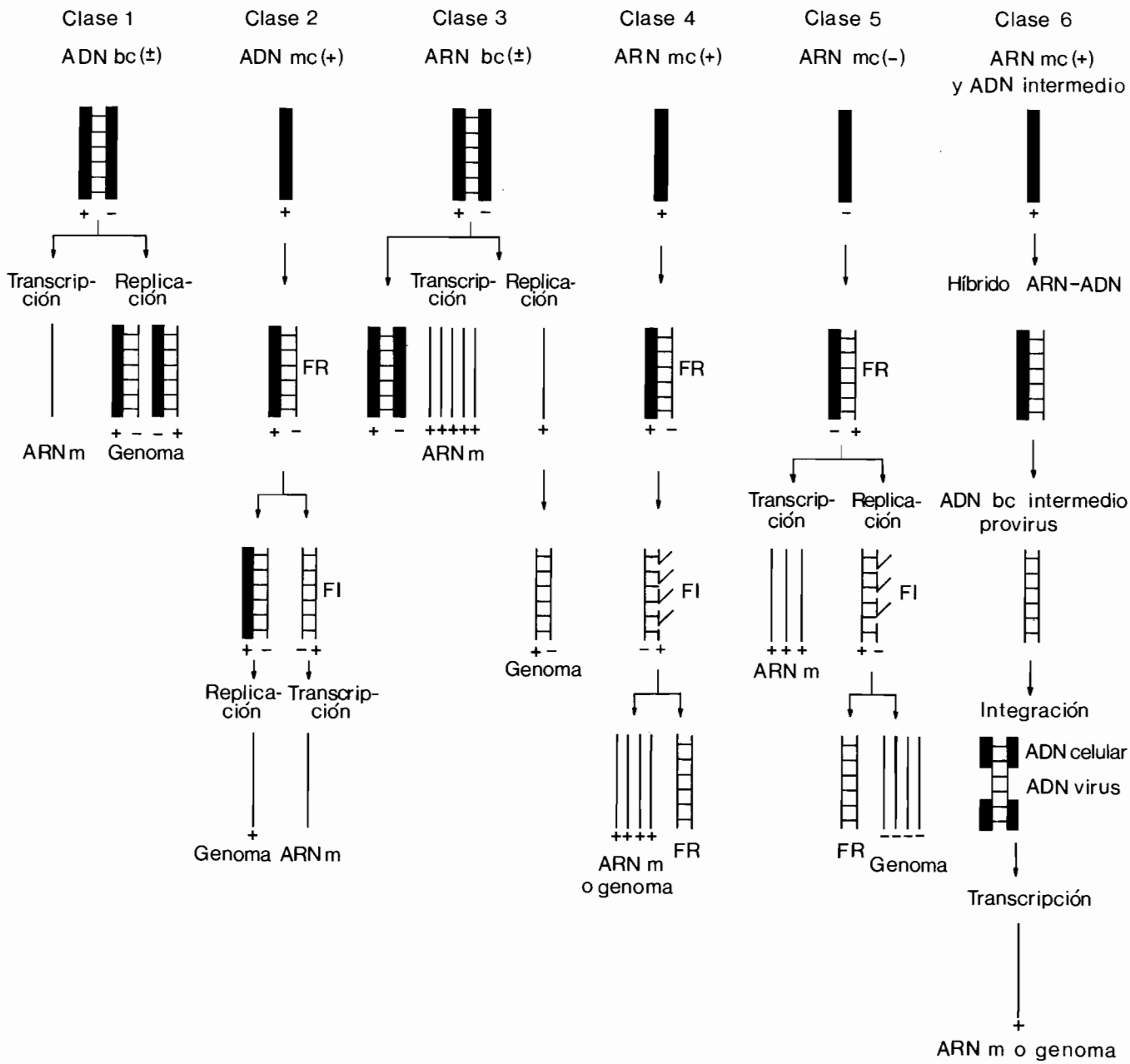


Fig. 53-23. Mecanismos de síntesis en los virus ADN y ARN. (Adaptado de Acton, J. D., y cols. En Fundamentals of Medical Virology. Lea and Febiger, Philadelphia, 1974.)

del virus, en presencia de fermentos (transcriptasas) de la célula (papovavirus, adenovirus, herpesvirus) o contenidos en el propio virus (poxvirus).

Clase 1. *Virus con ADN bicatenario*, que puede ser lineal (adenovirus, herpesvirus, poxvirus) o circular (papovavirus). En este caso, el ADN del virus sirve como modelo para la síntesis del ARN mensajero (transcripción) y de nuevas moléculas del ADN (replicación semiconservadora), sin la producción de una forma intermedia.

Clase 2. *Virus con ADN monocatenario de polaridad positiva* (parvovirus, fagos). Como la cadena de ADN del virus presenta la misma secuencia de bases que el ARN mensajero, se debe sintetizar primero una cadena de ADN complementaria o negativa, y queda formado un ADN bicatenario (forma replicativa) que por replicación semiconservadora dará lugar a nuevas moléculas de ADN bicatenario (forma intermedia), a partir de las cuales se producirá la transcripción del ARN mensajero y la replicación conservadora de nuevas moléculas del genoma.

En ambos casos, a partir del ADN del virus, se forma en el núcleo un ARN mensajero precoz policistrónico, que posteriormente se divide en moléculas más cortas monocistrónicas, que, previa la adición de ácido poliadenílico (poly A), se transportan al citoplasma y se traducen en los ribosomas en diversas proteínas precoces de función poco conocida:

1. Proteínas que bloquean la síntesis de los componentes de la célula (ADN, ARNm, proteínas), lo que permite que los ribosomas sean utilizados exclusivamente para la síntesis de las proteínas del virus. Este bloqueo puede producirse rápidamente (poxvirus, herpesvirus) o lentamente (adenovirus) o no producirse (papovavirus).
2. Enzimas que intervienen en la replicación del ácido nucleico del virus (replicasas).
3. A veces, nuevas proteínas de la célula, como los antígenos T, en las infecciones por adenovirus y papovavirus.

La replicación del ADN del virus se efectúa en el núcleo según el método clásico de apareamiento de las bases, en presencia de replicasas de la célula o contenidas en el propio virus. Sólo en el caso de los papovavirus, que presentan un genoma superenrollado, el proceso es más complejo, pues supone la intervención de endonucleasas que fragmentan la cadena y de ligasas que después de la replicación la recomponen. Posteriormente se produce la transcripción y traducción del nuevo ácido nucleico en proteínas tardías, que constituyen la mayoría de proteínas del virus.

Virus ARN

Los ribovirus constituyen un ejemplo único entre los agentes infecciosos, en el que toda la información genética está contenida en el ARN, lo que hace que la cantidad de información sea más limitada y los mecanismos de transferencia de esta información, en especial los de replicación, transcripción y traducción, sean distintos y más variados. En estos casos, la transcripción se efectúa a partir del ARN del virus según el número de cadenas y polaridad. La replicación en los virus con ARN monocatenario supone la síntesis de una cadena complementaria, con formación de estructuras bicatenarias (formas replicativa e intermedia), a partir de las cuales se sintetizarán las nuevas moléculas del ácido nucleico (genoma).

Clase 3. *Virus con ARN bicatenario.* Los reovirus presentan un genoma dividido en 10 fragmentos. Cada fragmento contiene una polimerasa que transcribe una sola cadena, para la formación de nuevas cadenas de ARN, algunas de las cuales actuarán como ARNm y las restantes servirán de modelo para la síntesis de cadenas complementarias y la formación de nuevas moléculas de ARN bicatenario (replicación).

Clase 4. *Virus con ARN monocatenario de polaridad positiva* (picornavirus y togavirus). El ácido nucleico del virus se comporta directamente como ARN mensajero, se une a los ribosomas y se traduce en su totalidad en proteínas específicas del virus, estructurales y enzimáticas, dando lugar a la formación de una polimerasa ARN, que cataliza la síntesis de cadenas de polaridad negativa. De esta manera se forma un ARN bicatenario o forma replicativa y posteriormente una forma replicativa intermedia. Esta última es una estructura ramificada parcialmente bicatenaria, constituida por una cadena negativa completa, que lleva adheridas varias cadenas positivas parcialmente sintetizadas, que darán lugar a la formación simultánea de múltiples cadenas positivas, las cuales a su vez formarán los nuevos genomas o bien actuarán como ARNm.

Clase 5. *Virus con ARN monocatenario de polaridad negativa* (ortomixovirus, paramixovirus). El virión contiene una transcriptasa que transcribe el ARN negativo del virus en ARN positivo, que se comporta como ARN mensajero. A su vez se forman estructuras bicatenarias (forma replicativa y replicativa intermedia), que darán lugar a nuevas cadenas negativas o genomas (replicación).

Cuando el genoma del virus está fragmentado (ortomixovirus), cada fragmento representa un gen o cistrón, a partir del cual se produce la transcripción de un ARNm monocistrónico, pero, cuando no está fragmentado (paramixovirus, rabdovirus), el ARN se encuentra en forma de una gran molécula policistrónica que se transcribe entera, de manera que el ARNm resultante o policistrónico debe ser descompuesto en moléculas más cortas monocistrónicas o traducirse en una gran molécula polipeptídica, que deberá ser descompuesta posteriormente.

Clase 6. *Virus con ARN monocatenario y formación de un ADN intermedio* (retrovirus). En estos casos, el virus contiene una transcriptasa, que presenta la propiedad singular de transcribir el ARN (cadena positiva) en ADN, y se forma un híbrido ARN-ADN que sirve de modelo para la síntesis de un ADN bicatenario o provirus, que se integra en el genoma de la célula ya en forma oculta (célula portadora) o manifiesta, generalmente por la transformación maligna de la célula. A partir de este ADN integrado se transcribe el ARNm y el nuevo ARN del virus (replicación), que sólo se diferencian por su tamaño.

En los ribovirus se producen las mismas fases que en los virus ADN, de manera que en una primera etapa a partir de la transcripción y traducción del ARN del virus se sintetizan proteínas precoces, que pueden bloquear la biosíntesis celular (picornavirus) o no (paramixovirus). Posteriormente se produce la replicación del ARN del virus, que plantea un problema especial, ya que no se puede realizar por el mecanismo normal a partir del ADN, y que en los virus con ARN monocatenario se realiza a través de una forma replicativa intermedia. Después de la replicación se produce la transcripción y traducción del nuevo ácido nucleico en proteínas tardías del virus, que pueden ser estructurales y no estructurales.

Fase de maduración y liberación

Al final de la fase anterior, los diversos componentes del virus que se han sintetizado de forma independiente deben integrarse para dar lugar al virión completo, que posteriormente se libera al exterior.

Maduración

El fenómeno de *maduración* o *integración* es poco conocido. Se sabe que los diversos componentes del virus deben transportarse a determinadas áreas de la célula, donde se inicia la formación del nucleocápside, que por lo general se efectúa en el citoplasma para los ribovirus (a excepción de los ortomixovirus) y en el núcleo para los desoxirribovirus (a excepción de los poxvirus). Esta fase se considera fundamentalmente un proceso autocatalítico, de manera que el ácido nucleico se une espontáneamente a proteínas básicas

para formar la parte central o core del virus y luego puede recubrirse de una o varias capas de proteínas según la complejidad del virión y, por los capsómeros producidos por autoagrupación de los polipéptidos, que se disponen en forma simétrica y constituyen el cápside externo.

En los virus desnudos, las subunidades proteicas se organizan independientemente en una estructura denominada procápside, que engloba el ácido nucleico, y posteriormente por modificación de los polipéptidos queda constituido el virión (picornavirus, togavirus).

En los virus envueltos, las proteínas de la envoltura se forman en los ribosomas del retículo endoplásmico y emigran a alguna de las membranas de la célula. Las proteínas del cápside, por el contrario, se sintetizan en los ribosomas libres, rápidamente se autoagrupan alrededor del ácido nucleico y forman el nucleocápside, con la única excepción de los ortomixovirus. En este caso, las proteínas del cápside emigran al núcleo probablemente para la protección y transporte del ARN y pasan luego en forma de nucleocápside al citoplasma.

En los virus más complejos, como los poxvirus, tanto la síntesis como la maduración se realizan en determinadas áreas del citoplasma o factorías del virus, donde los diversos componentes se encuentran en la concentración crítica. En su fase inicial están constituidos por material filamentoso, que más tarde forma agregados densos recubiertos de una membrana limitante, y se produce a continuación un proceso de maduración y diferenciación ulterior, que conduce a la formación del virión completo.

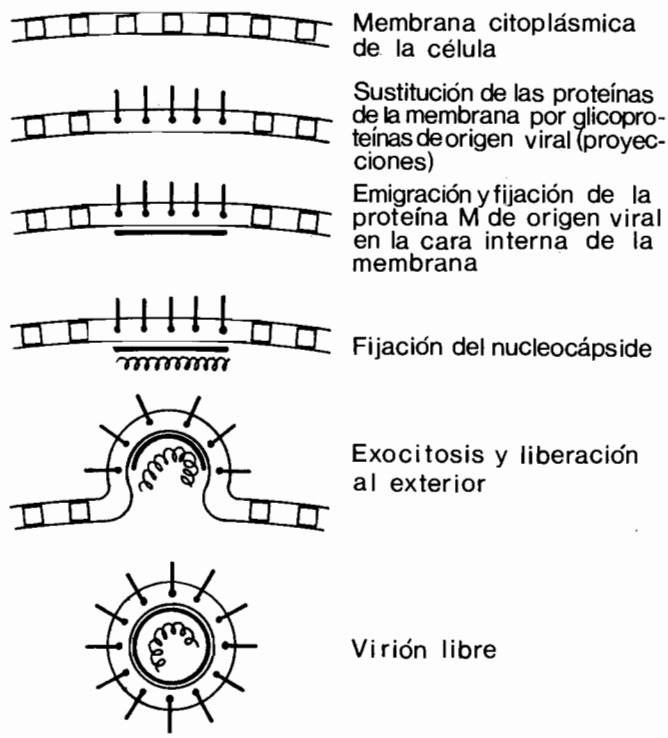


Fig. 53-24. Mecanismo de maduración y liberación por evaginación de la membrana citoplásmica de la célula (mixovirus).

Liberación

En la última etapa, cada célula libera varios miles de viriones, lo que marca el final del período de latencia. Se conocen dos mecanismos fundamentales:

1. En los virus icosaédricos desnudos, los procesos de maduración y liberación son independientes. Una vez producidos los nuevos viriones, éstos se acumulan en el núcleo o en el citoplasma según los casos, a veces en forma de agregados cristalinos, y se origina posteriormente su liberación masiva por destrucción y lisis de la célula huésped (picornavirus, adenovirus). Los virus desorganizan el metabolismo de la célula y producen alteraciones de la membrana que conducen a la lisis.

2. Por el contrario, en los virus envueltos, ambos procesos ocurren generalmente de forma simultánea. En estos virus, además de las proteínas del núcleo y cápside, se sintetizan en el citoplasma las proteínas de la envoltura (glicoproteínas o no), que emigran a una membrana de la célula, que puede ser la membrana citoplásmica (mixovirus), nuclear (herpesvirus), del retículo endoplásmico o de las vacuolas (togavirus), mientras que los lípidos son suministrados por la membrana de la célula huésped. Las glicoproteínas del virus se fijan en la membrana desplazando las proteínas de la célula y formando zonas de membrana modificada, que posteriormente se desarrollan y dan lugar a las proyecciones o peplómeros. Por otra parte, se sintetizan proteínas de menor peso molecular (no glicoproteínas), las cuales forman una capa debajo de la membrana modificada (proteína matriz o M), que constituye el lugar de reconocimiento para el nucleocápside. El nucleocápside, constituido por el mecanismo general de autocatálisis, emigra hacia la membrana, se alinea debajo de las áreas de membrana modificada y se fija a la proteína matriz, y mediante un proceso de evaginación o exocitosis en dedo de guante el virus queda envuelto y se produce su liberación.

Cuando este proceso ocurre en la membrana citoplásmica de la célula, los procesos de maduración y liberación ocurren simultáneamente y el virus se libera al exterior (fig. 53-24). Pero en aquellos virus, que adquieren la envoltura por evaginación de otra membrana de la célula, una vez producida la maduración, el virión completo ya directamente o en el interior de vesículas de la membrana o de cisternas del retículo endoplásmico puede permanecer en estrecha asociación con la membrana citoplásmica hasta su liberación, que se produce en general por fusión. En los herpesvirus que se forman por evaginación de la membrana nuclear, los virus llegan al exterior a través de canales citoplásmicos. En estos casos, la liberación se produce de forma continua, los virus son no citolíticos y la célula puede sobrevivir durante largo tiempo.

Virus incompletos. Infecciones abortivas y restrictivas

En las infecciones celulares con liberación de virus (infecciones productivas) se observa no sólo la presencia de virus completos o infecciosos, sino que, además, por errores en el proceso de maduración se pueden liberar cápsides vacíos, sin ácido nucleico, u otras partículas aberrantes que carecen de poder infeccioso; son los virus incompletos que se observan especialmente en los cultivos de virus gripales en huevo embrionado y de adenovirus en cultivo celular.

Por otra parte, cuando se inoculan virus en cultivos celulares, puede ocurrir que no se produzca la maduración y no se liberen partículas infecciosas del virus; en estos casos, la infección es abortiva. Las infecciones abortivas pueden ser debidas: *a)* al tipo de célula, que no es el adecuado para la replicación del virus (células no permisivas), de manera que sólo algunos genes se expresan, como en la inoculación de virus gripales en células HeLa, o *b)* al virus, cuando éste es incapaz genéticamente de sintetizar todos sus componentes; son los virus defectivos, como los virus adenoasociados, que sólo pueden replicarse cuando se desarrolla simultáneamente un adenovirus en la misma célula (complementación).

Por último, se ha observado que las células pueden ser permisivas sólo durante un breve período de tiempo, de manera que el virus persiste en la célula hasta que se hace permisiva, lo que representa que sólo algunas células producen y liberan virus (infecciones restrictivas).

En la actualidad, las infecciones abortivas y restrictivas se consideran de importancia para explicar las infecciones persistentes y la malignización de la célula.

GENETICA

Al igual que las bacterias, los virus pueden sufrir variaciones genotípicas, que pueden ser producidas por dos mecanismos fundamentales: mutación o recombinación.

Mutaciones

Las mutaciones son modificaciones del genoma, producidas por alteración de la secuencia de bases. Se producen en general por un apareamiento incorrecto durante el proceso de replicación y pueden afectar un solo nucleótido (mutaciones puntuales) o un gran número de ellos, como consecuencia de roturas seguidas de inversión o pérdida (deleción) del fragmento. Las mutaciones son por lo general espontáneas y ocurren con escasa frecuencia (10^{-5}-10^{-8}), pero se puede aumentar la frecuencia de mutación de manera inespecífica, por la acción de diversos factores físicos o químicos (mutágenos).

Los tipos de mutantes son muy numerosos, pero los más importantes afectan el tamaño y morfología de las placas, cuando se inoculan virus por el método de Dulbecco (*plaque mutans*), las características de las lesiones que producen en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo (*pock mutans*), la estructura antigénica, la resistencia o dependencia a ciertos agentes químicos y el poder patógeno. A este respecto son muy interesantes las mutantes letales condicionales, en especial las mutantes termosensibles, que son incapaces de desarrollarse a temperaturas elevadas, pues se ha observado que en general conservan los antígenos inmunizantes y son mucho menos virulentas que la cepa original. También se han seleccionado mutantes atenuadas por inoculación de huevos embrionados o cultivos celulares sometidos a temperaturas de incubación más bajas que las normales y mutantes dependientes del huésped, que no se desarrollan en ciertos tipos de células no permisivas, pero se propagan en células permisivas. Por métodos empíricos o mediante estas técnicas de manipulación genética se ha podido llegar al aislamiento de mutantes de virulencia atenuada, de gran importancia en la preparación de vacunas (poliovirus de Sabin, cepa 17D del virus de la fiebre amarilla, cepas HEP y LEP del virus rábico).

Fenómenos de interacción y recombinación

A diferencia de las bacterias, los virus son parásitos intracelulares y existe la posibilidad de que una misma célula pueda ser infectada por dos virus (infección mixta), lo que facilita la producción de fenómenos de interacción entre ambos virus en el curso de su replicación y de éstos con la célula huésped. Estos fenómenos pueden producirse con o sin afectación del genoma.

Interacciones del genoma

Son fenómenos de recombinación, que suponen un intercambio de fragmentos de ácido nucleico entre ambos virus, de manera que los genomas resultantes contienen genes de ambos progenitores. Estas interacciones son por lo general estables y se transmiten a la descendencia, y pueden presentar distintas modalidades según se trate de virus activos o inactivos.

Recombinación genética. Ocurren cuando los fenómenos de interacción se producen entre los genomas de dos virus activos relacionados. Se conocen dos variedades: *a) Recombinación intramolecular,* cuando el genoma de los virus no está fragmentado. En estos casos se considera que se produce la rotura de una de las cadenas del ácido nucleico y que una parte del genoma de uno de los virus se une a otra del genoma del otro virus, dando lugar a una progenie (recombinante) que presenta caracteres de ambos. Se ha observado entre mutantes de adenovirus, poxvirus, picornavirus. *b) Reagrupación de segmentos genómicos (genetic reassortment)* cuando el genoma está fragmentado. No es una verdadera recombinación entre moléculas de ARN, sino una reordenación y segregación de genes o fragmentos, como ocurre en los ortomixovirus, lo que ha permitido explicar la aparición de variantes mayores o nuevos subtipos del virus gripal. Cuando la recombinación ocurre entre los genomas de virus no relacionados, puede dar lugar a la aparición de virus híbridos, fenómeno de *hibridación,* como se ha demostrado en las infecciones mixtas entre adenovirus y algunos papovavirus (SV40).

Reactivación cruzada. Ocurre en las infecciones mixtas entre un virus activo y otro inactivo de la misma especie, pero que presentan diferencias genéticas. En estos casos, por mecanismos de recombinación, el virus activo puede incorporar una parte del genoma del virus inactivo y expresar las propiedades correspondientes. Es el rescate de genes o de marcadores, método que se ha utilizado para obtener cepas de virus gripal, que se repliquen rápidamente en huevo embrionado, de gran importancia en la preparación de vacunas con nuevas variantes.

Reactivación múltiple. Ocurre en las infecciones mixtas entre dos partículas de un mismo virus inactivado, en regiones diferentes del genoma. En este caso, por recombinación entre las moléculas de ácidos nucleicos defectivos se puede producir un virus activo. Se ha observado sobre todo en vi-

rus inactivados por rayos ultravioletas, lo que ha motivado la prohibición de su empleo para la preparación de vacunas.

Transformación. Se produce cuando los fenómenos de recombinación ocurren entre un virus activo y el genoma de la célula huésped. En estos casos se produce la integración de todo el ácido nucleico del virus o parte de él en el genoma de la célula huésped, que puede no manifestarse (infección muda o críptica) o dar lugar a la transformación maligna de la célula.

Interacciones sin afectación del genoma

Además de las interacciones entre los genes, en las infecciones mixtas se pueden producir interacciones entre los productos (proteínas) codificados por los genes de ambos virus. Por lo general, estas interacciones, por no suponer cambios en el genoma, son transitorias y no se transmiten a la descendencia.

Fenotipo mixto y transcapsidación. Cuando dos virus relacionados se replican en una misma célula, las diversas proteínas sintetizadas pueden mezclarse en el *pool* metabólico y dar lugar a partículas que presentan caracteres de ambos virus, aunque su genotipo corresponda sólo a uno de ellos. Estos fenómenos pueden ocurrir tanto con las proyecciones de la envoltura de ambos virus (envoltura mixta) como con el cápside en los virus desnudos, que puede estar formado por capsómeros de ambos virus (cápside mixto). También se puede producir un intercambio total del cápside (transcapsidación), como se ha observado en los adenovirus y enterovirus (fig. 53-25).

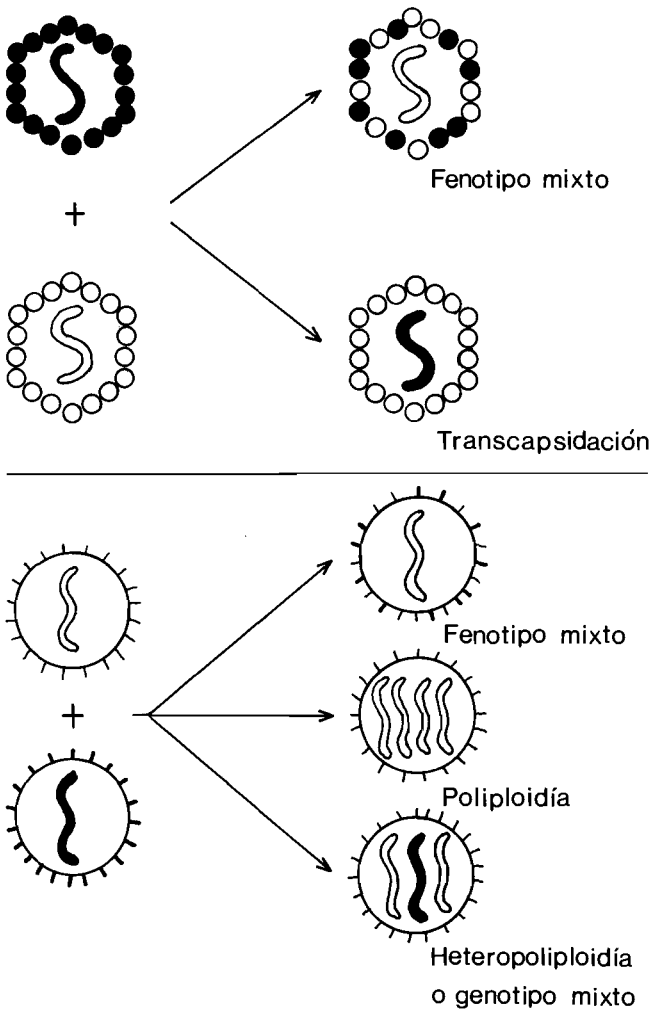


Fig. 53-25. Interacciones entre dos virus sin afectación del genoma.

Poliploidía y genotipo mixto. Incluye la incorporación de varios genomas completos en una misma partícula, sin la existencia de fenómenos de recombinación. Se observa por lo general en los virus con envoltura que maduran por evaginación de la membrana citoplásmica de la célula y pueden incorporar dos o más nucleocápsides (paramixovirus) genéticamente iguales (poliploidía) o de virus relacionados (heteropoliploidía o genotipo mixto) (fig. 53-25).

La producción de virus con nuevos caracteres puede suponer ventajas, como un mayor espectro de infección en los animales o en los cultivos celulares, y una mayor rapidez de desarrollo, pero también inconvenientes, como mayores dificultades en la identificación serológica y la transformación maligna de la célula, e incluso podría explicar la aparición de nuevos virus por hibridación entre virus no relacionados.

Complementación, estimulación e interferencia

Cuando se produce la infección de una célula por dos virus, puede suceder que ambos se multipliquen independientemente y se produzca una infección doble, pero en otras ocasiones uno de ellos puede facilitar el crecimiento del otro (complementación), incrementarlo (estimulación) o inhibir su desarrollo (interferencia).

Complementación

Se produce en las infecciones mixtas, cuando uno de los virus induce la síntesis de una proteína (estructural o enzimática), que es esencial para el desarrollo del segundo virus. Son fenómenos de interacción que no afectan el genoma y se pueden producir entre un virus activo y uno defectivo, entre dos virus defectivos o entre dos mutantes. Los virus adenoasociados son virus defectivos incapaces de replicarse, si no se desarrollan adenovirus en la misma célula. De la misma manera, los adenovirus humanos no se multiplican en células de riñón de mono, si no se desarrolla simultáneamente un papovavirus del mono (SV40). También se ha observado en mutantes sensibles a la temperatura, que pueden ser complementadas por otras mutantes.

Estimulación

Ocurre cuando uno de los virus favorece la multiplicación o la acción citopática del segundo virus. Este fenómeno se produce por lo general entre virus no relacionados; así, el virus parainfluenza tipo 1 estimula la multiplicación del virus de la estomatitis vesicular en embrión de pollo. Se considera debido a la síntesis por el virus parainfluenza de

una proteína que bloquea la producción o la acción de interferón.

Interferencia

Véase fenómeno de interferencia e interferón en pág. 608.

ANTIGENOS

La constitución antigénica de los virus se va conociendo con mayor precisión, a medida que se progresa en el conocimiento de su estructura y composición química. En la partícula se puede considerar la existencia de:

Antígenos superficiales

Son los más importantes y pueden distinguirse:

1. Los antígenos del cápside. Son proteínas estructurales que constituyen el cápside y los capsómeros y en algunos virus pueden formar varias capas.
2. Los antígenos de la envoltura. Son proteínas asociadas con glúcidos o lípidos, algunos de los cuales son específicos del virus, como los contenidos en las proyecciones o peplómeros (hemaglutininas, neuraminidasas), mientras que otros son específicos de la célula donde tuvo lugar el proceso de replicación.

Los antígenos superficiales son los más específicos y pueden presentar especificidad de tipo, subtipo y aun de cepa. Se demuestran por reacciones de neutralización y fijación del complemento, y los anticuerpos que inducen al combinarse con estos antígenos neutralizan la acción del virus. Son anticuerpos neutralizantes que intervienen en los fenómenos de inmunidad adquirida.

Antígenos profundos

Son proteínas internas del virión muchas veces asociadas con el ácido nucleico (nucleoproteínas), proteínas estructurales, como la proteína matriz o M de los ortomixovirus, y aun proteínas no estructurales diversas, enzimáticas o no, que pueden pasar a las células infectadas o liberarse durante la lisis de la célula.

Por extracción de tejidos, cultivos celulares infectados o suspensiones purificadas de virus pueden obtenerse antígenos solubles, constituidos por fracciones antigénicas diversas según los virus, que por lo general son menos específicos y, en algunos casos, por ser comunes a un grupo o familia de virus (grupoespecíficos), tienen gran importancia en el diagnóstico serológico de las virosis; se demuestran por reacciones de fijación del complemento y de precipitación. En algunos casos contienen mayor proporción de proteínas internas, como en los virus gripales (proteínas NP y M), y, en otros, algunos antígenos del cápside, como el antígeno grupoespecífico de los adenovirus, que se identifica con las proteínas del hexón.

Pero, además, en las células infectadas se encuentran antígenos diversos como consecuencia del proceso de replicación del virus (antígenos estructurales y enzimáticos), entre los cuales hay que distinguir los antígenos de las proyecciones de los virus con envoltura, que se sitúan en áreas determinadas de la membrana citoplásmica de la célula y que en presencia de hematíes son responsables del fenómeno de hemadsorción, y los antígenos T y de trasplante en las células tumorales.

Propiedades biológicas

Además, algunos de los productos o proteínas del virus presentan propiedades biológicas de interés para su conocimiento e identificación. Como más importantes se pueden citar los fenómenos de hemaglutinación, fusión celular y hemólisis.

Hemaglutinación

Cierto número de virus presentan en su superficie un antígeno particular de naturaleza proteica, la hemaglutinina, que tiene la propiedad de combinarse con otras proteínas (mucoproteínas) de estructura complementaria, que existen en los receptores de la membrana de otras células, en especial de los hematíes, y producir el fenómeno de la hemaglutinación. Se observó por primera vez en los virus gripales (reacción de Hirst) y posteriormente se ha demostrado en otros grupos de virus. En la actualidad se considera que la mayoría de virus presentan capacidad hemaglutinante, que depende de la especie de los hematíes (tabla 53-6) y de condiciones determinantes de temperatura y pH, diferentes para cada grupo de virus.

La hemaglutinina es un componente estructural de la superficie del virión, que en los virus desnudos de pequeño tamaño se identifica con el virus completo o con cápsides vacíos y en los virus mayores puede corresponder a agregados de estructuras del cápside. En los virus envueltos se identifica en las proyecciones o peplómeros, y pueden producir la reacción el virión completo o fragmentos de la envoltura.

En los ortomixovirus y paramixovirus, la hemaglutinina es una glicoproteína, que constituye la mayoría de proyecciones de la envoltura, pero, además, existe un fermento, neuraminidasa, que corresponde a otras proyecciones y presenta la propiedad de descomponer el ácido N-acetil-neuramínico, principal componente del receptor del hematíe, y producir la elución o separación del virus. La hemaglutinación es típica de los virus de la gripe, parainfluenza y parotiditis, y se produce la reacción en tres fases: *a)* fijación del virus en el receptor celular del hematíe; *b)* hemaglutinación, y c) elución o separación del virus, como

Tabla 53-6. Hemaglutinación según los virus y especies de hematíes

Virus	Hematíes
Adenovirus	Mono y rata
Virus de la gripe, parainfluenza y de la parotiditis	Pollo, humanos y cobayo
Virus del sarampión	Mono
Picornavirus y reovirus	Humanos
Togavirus y bunyavirus	Paloma y ganso

consecuencia de la destrucción enzimática del receptor del hematíe. El virus es incapaz de aglutinar por segunda vez los mismos hematíes, pero puede aglutinar otros nuevos. Los virus inactivados también producen el fenómeno de la hemaglutinación, pero no destruyen el receptor celular ni se produce la elución del virus. Sin embargo, en la mayoría de virus hemaglutinantes (togavirus, bunyavirus, adenovirus, picornavirus), la hemaglutinina es de naturaleza lipoproteica, el virus no presenta acción enzimática ni destruye el receptor celular, y la hemaglutinación es irreversible.

La reacción de hemaglutinación constituye una técnica de identificación preliminar de los virus aislados en huevo embrionado o cultivos celulares y, además, permite la cuantificación del virus (activo e inactivo) presente en una suspensión (título hemaglutinante). Por otra parte, constituye un método cuantitativo para la demostración de anticuerpos en el suero del enfermo, porque los anticuerpos, al neutralizar el virus, inhiben específicamente la hemaglutinación (reacción de inhibición de la hemaglutinación).

Fusión celular y hemólisis

En los paramixovirus existen dos tipos de proyecciones glicoproteicas, las glicoproteínas HN, que presentan a la vez actividad de hemaglutinina y de neuraminidasa, y las glicoproteínas F, que contienen un factor de fusión y presentan actividad hemolítica.

En las células infectadas, las glicoproteínas sintetizadas en el retículo endoplásmico y transportadas a la membrana citoplásmica pueden comunicar nuevas propiedades a la célula, pues, además del fenómeno de hemadsorción debido a la presencia de hemaglutininas (proyecciones HN), pueden producir la fusión con las células vecinas no infectadas (proyecciones F) y dar lugar a la formación de células gigantes o policariocitos (fig. 53-21).

Asimismo, las suspensiones de paramixovirus que contienen grandes cantidades de dicho factor, cuando se inoculan a células no infectadas, pueden producir la fusión de las células antes de que se inicie la replicación del virus (2-3 horas). La hemaglutinina fija el virus a los receptores de la membrana de las células y facilita de esta manera la actividad del factor de fusión. La capacidad de fusión es independiente del poder infeccioso del virus, pues las suspensiones de virus inactivados pueden producir la fusión de células de la misma especie (policariocitos) e incluso de especies diferentes (heterocariocitos); se ha utilizado la fusión de células tumorales con células normales para obtener la activación del virus y también la fusión de células formadoras de anticuerpos de vida corta con células tumorales de mieloma productoras de un tipo determinado de Ig y capaces de dividirse continuamente en medios artificiales, para obtener la formación de hibridomas de gran interés para la producción de anticuerpos monoclonales altamente específicos.

Por otra parte, los virus que presentan el factor de fusión, cuando se fijan por su hemaglutinina a los receptores de los hematíes, ocasionan alteraciones de la membrana que producen la hemólisis.

BIBLIOGRAFIA

Se encuentra al final del capítulo 54 y corresponde a los capítulos 53 y 54.

Capítulo 54

Virología general (II)

Agustín Pumarola

ACCION PATOGENA Y PATOGENIA

La acción patógena de los virus, al igual que la de las bacterias, es multifactorial, depende de factores del virus y del huésped, que condicionan su capacidad de penetración, multiplicación e invasión del organismo, con interferencia de los mecanismos naturales de defensa y, en último término, de su capacidad lesional de células o tejidos. Los factores determinantes de la acción patógena son diversos y en gran parte desconocidos:

Interacciones en el epitelio

Los virus para manifestar su acción, en primer lugar, tienen que llegar a la superficie del huésped y fijarse en las células susceptibles del epitelio cutaneomucoso, resistiendo o sorteando la acción de los mecanismos naturales de defensa.

Para ello en una primera fase tienen que *evitar la acción fijadora y eliminadora del moco* (sistema mucociliar, movimientos peristálticos y del contenido intestinal). Algunos virus (ortomixovirus, paramixovirus) son capaces de atravesar la capa de moco debido a que contienen enzimas (neuraminidasas) que presentan la propiedad de descomponer las glicoproteínas del moco. Si no presentan mecanismos semejantes, es necesario que existan alteraciones del huésped, que faciliten la penetración a través del moco y la fijación; así, en las vías respiratorias puede afectarse el sistema mucociliar por la contaminación atmosférica, humo del tabaco, bronquitis crónica, asma bronquial, intubaciones traqueales y diversas infecciones bacterianas *(H. influenzae, B. pertussis, M. pneumoniae)*, que deprimen la función ciliar. En el tubo digestivo ocurre lo mismo cuando se encuentran alterados el peristaltismo y la motilidad intestinal.

Pero, además, en la superficie de la mucosa existen otros mecanismos defensivos que tienden a interferir en su acción, pero que los virus dotados de virulencia deben ser capaces de superar. Deben considerarse los *factores físicoquímicos*, como la temperatura que limita la multiplicación de los rinovirus a la mucosa nasal (33-35 °C), la acidez del jugo gástrico que, junto con la bilis, destruye los virus con membrana que ingresan en el tubo digestivo, también la existencia de *sustancias inhibidoras, anticuerpos locales* y *fagocitos*, que se encuentran en la superficie del epitelio y tienden a eliminar los virus, así como la presencia de una *flora comensal*, que ejerce una acción competitiva, probablemente induciendo la producción de interferón.

Sin embargo, el factor fundamental es la *fijación* o *adherencia de los virus a la membrana de las células epiteliales*, que, al impedir su eliminación por los mecanismos naturales de defensa, permite iniciar la infección. Constituye la primera fase en el mecanismo de replicación del virus y está en relación con la presencia de compuestos o estructuras en la superficie del virión y de receptores en la membrana de las células susceptibles.

Penetración

Los virus pueden penetrar en el organismo por dos mecanismos: *pasivamente* a través de soluciones de continuidad del epitelio producidas por heridas, mordeduras (virus rábico), jeringuillas (virus de la hepatitis B) o la picadura de artrópodos (togavirus, bunyavirus) o *activamente* como consecuencia de la infección y replicación del virus en las células de la piel o mucosas, lo que ya representa un mecanismo de penetración.

En estos casos, la infección vírica puede presentar diversas modalidades: unas veces, el virus se multiplica sólo en el epitelio, produciendo una infección localizada de la piel (virus de la verruga común), de las mucosas respiratorias (virus de la gripe), intestinal (rotavirus) o urogenital (virus del papiloma), pero, en otras, el virus después de un período de multiplicación en las células del epitelio respiratorio (virus del sarampión) o intestinal (enterovirus) difunde a los tejidos susceptibles, produciendo una infección generalizada.

Sin embargo, algunos virus pueden penetrar a través de la mucosa sin producir alteración aparente, como ocurre con el virus de la hepatitis B, que puede producir la infección por contacto sexual o por contacto de una mucosa con sangre contaminada.

Multiplicación

Los virus pueden multiplicarse en las células de la puerta de entrada (epitelio cutaneomucoso) y de diversos órganos y tejidos, lo que depende de la presencia de células suscep-

tibles. Las células deben presentar características que permitan cumplir el ciclo de replicación intracelular del virus; son los factores de replicación que pueden encontrarse en la membrana (receptores) facilitando la fijación y penetración del virus y en el citoplasma permitiendo la liberación del ácido nucleico y la obtención de la energía y precursores necesarios para cumplir las fases de biosíntesis, maduración y liberación. Estos factores varían según las células y el medio ambiente que los rodea.

Interferencia con los mecanismos de defensa del huésped

Los virus para invadir el organismo y expresar su acción patógena deben ser capaces de interferir con los mecanismos naturales de resistencia inespecífica, tanto humorales como celulares, y en algunos casos incluso con la respuesta inmune.

Entre los *factores humorales* de defensa se encuentran la *fiebre* y el *pH ácido* de los exudados inflamatorios, que disminuye la capacidad de replicación de los virus, así como la presencia de *sustancias inhibidoras* en la sangre y tejidos, como globulinas y lipoproteínas del suero, distintas de los anticuerpos y del complemento, que intervienen en la neutralización de la infectividad de los virus con envoltura.

Entre los *factores celulares* se debe tener en cuenta en primer lugar la *fagocitosis*, que no es tan importante como en las infecciones bacterianas, sobre todo para los leucocitos polinucleares. No ocurre lo mismo con los leucocitos mononucleares y macrófagos que captan rápidamente determinados virus y los destruyen. Sin embargo, algunos virus patógenos presentan la propiedad de sobrevivir y aun de replicarse en los macrófagos; en este caso, la replicación en el fagocito puede constituir una fase del proceso infeccioso, sobre todo cuando aquél sufre pocas alteraciones y transporta los virus a lugares alejados del organismo. Estos hechos explican que la reacción inflamatoria en las virosis sea menos intensa y se caracterice por un predominio de células mononucleares. También debe considerarse la producción de *interferón* por las células infectadas. Los virus varían en su capacidad de inducir la producción de interferón y en la sensibilidad a su acción, y se ha observado que en general los virus virulentos son malos inductores de interferón o más resistentes a su acción, aunque no siempre es así. Los virus que producen a partir del ARNm precoz proteínas precoces que bloquean la síntesis de los componentes de la célula reducen a su vez la síntesis de interferón o producen sustancias análogas que se comportan como antagonistas.

En consecuencia, los virus dotados de virulencia deben presentar la propiedad de replicarse en los tejidos inflamados, en presencia de fiebre, pH ácidos, células fagocitarias, sustancias inhibidoras e interferón. Constituyen los factores de virulencia que en gran parte son desconocidos.

También en ocasiones los virus pueden *interferir en la respuesta inmune*. Esto ocurre cuando se comportan como malos antígenos (virus lentos) o presentan variaciones antigénicas (virus de la gripe) frente a las cuales la población se comporta como no inmune, así como cuando disminuye la producción de anticuerpos por acción sobre los inmunocitos o deprimen la inmunidad celular por desarrollo en los linfocitos.

Invasión

Los virus, como consecuencia de su capacidad de multiplicación y de interferencia con los mecanismos de defensa, pueden invadir el organismo y difundir por diversas vías:

Por contigüidad a las células de los tejidos vecinos

Este tipo de difusión produce por lo general infecciones localizadas, que pueden estar en la piel, como la verruga común (papovavirus) y el *molluscum contagiosum* (poxvirus), o en las mucosas del aparato respiratorio (ortomixovirus, paramixovirus, rinovirus, coronavirus), de la conjuntiva y córnea (adenovirus, herpesvirus), del tubo digestivo (rotavirus, enterovirus) y del tracto urogenital (herpesvirus tipo 2, papovavirus). En la verruga común y el *molluscum contagiosum*, el paso del virus de célula a célula se encuentra facilitado por la existencia de puentes citoplásmicos en las células del epitelio cutáneo. En las infecciones de la mucosa respiratoria, como el herpes que afecta la mucosa bucal, el resfriado común que altera la mucosa nasal y la gripe que perturba toda la mucosa respiratoria, por lo general, los virus difunden más rápidamente por la capa de moco que existe en la superficie de la mucosa y se moviliza merced al epitelio ciliado.

Además, los virus pueden llegar a los ganglios linfáticos regionales y a veces producir una fase de viremia que explica la respuesta en anticuerpos que se produce.

Por vía sanguínea (viremia)

Constituye la vía de difusión más frecuente en las infecciones generalizadas o sistémicas, que afectan órganos o tejidos situados a distancia de la puerta de entrada. Por lo general, el virus penetra a través de la mucosa respiratoria o digestiva, llega a los linfáticos regionales donde se multiplica y más tarde difunde por la sangre (viremia primaria) y circula libremente por el plasma (enterovirus) o asociado con leucocitos (virus del sarampión, poxvirus), hematíes (virus de la coriomeningitis linfocitarias) o plaquetas. Estas células son captadas, según los casos, por el SRE del hígado, bazo, pulmón, medula ósea y ganglios linfáticos, donde se produce una segunda fase de multiplicación del virus, que difunde de nuevo por la sangre (viremia secundaria). Aunque los virus pueden localizarse y multiplicarse en órganos o tejidos diversos, los signos y síntomas de la infección dependen de su multiplicación en tejidos u órganos determinados (tejidos u órganos diana), como la piel, SNC, hígado, corazón, glándulas salivales, etc.

Por vía nerviosa

Aunque la difusión del virus al SNC se realiza frecuentemente por vía sanguínea, en algunas virosis, como la rabia, puede ocurrir por vía nerviosa. En este caso, los virus pueden difundir por infección de las células de Schwann, por los espacios entre las fibras nerviosas o directamente por los cilindroejes. No se conoce la vía que utilizan, pero también pueden difundir en sentido contrario o centrífugo, como ocurre en la rabia, herpes y herpes zoster.

Acción sobre las células

La acción de los virus debe considerarse en dos niveles distintos: las células y los organismos superiores, el hombre o los animales.

La acción de los virus sobre las células se ha estudiado fundamentalmente en los cultivos celulares y se ha observado que como consecuencia de la infección se pueden producir dos tipos fundamentales de respuesta celular:

Infecciones productivas citolíticas

El virus produce alteraciones celulares que conducen a la destrucción y muerte de la célula con liberación de nuevos virus. Son las *infecciones productivas citolíticas*, ocasionadas por herpesvirus, adenovirus, picornavirus y poxvirus. Las alteraciones citopáticas, aunque afectan predominantemente la membrana, el citoplasma o el núcleo, producen la destrucción de la célula y son debidas generalmente al proceso de replicación intracelular del virus, como consecuencia:

1. De la síntesis de proteínas precoces específicas del virus, que en algunos casos producen un bloqueo de los mecanismos de biosíntesis celular (ARN y proteínas).
2. De la síntesis de proteínas tardías (proteínas del cápside) y su acumulación, que puede producir una acción tóxica sobre la célula.
3. De la liberación de enzimas lisosómicas, que producen la autólisis de la célula.
4. De la presencia de antígenos del virus en la membrana de la célula, que producen fenómenos de fusión celular.

Infecciones persistentes

El virus no produce alteraciones celulares aparentes o sólo las causa en grado mínimo, de manera que la mayoría de las células del cultivo sobreviven. En estos casos se producen *infecciones persistentes*, que se pueden diferenciar en tres variedades:

Infecciones productivas estables. Se producen cuando se afectan todas o la mayoría de células del cultivo, que generan y liberan virus sin que se altere de forma importante el metabolismo y multiplicación de la célula. Algunas células pueden ser destruidas, pero no es una condición para la liberación del virus. Se observan en las infecciones por algunos ribovirus con envoltura (paramixovirus, togavirus, rabdovirus, arenavirus), que se liberan por un proceso de evaginación o gemación a través de la membrana citoplásmica de la célula. La infección se detecta por la demostración de fenómenos de hemadsorción o de interferencia cuando se inocula un virus citopático conocido, o demostrando la presencia del virus por inmunofluorescencia.

Cultivos portadores. Se observan cuando se afectan un pequeño número de células del cultivo, incluso con aparición de alteraciones citopáticas, de manera que la infección no se extienda al resto del cultivo a consecuencia de un escaso número de células susceptibles o de la producción de interferón u otras sustancias inhibidoras que limitan la infección.

Infecciones no productivas, integradas o latentes. En estos casos no se producen ni se liberan virus, pero la infección se mantiene por división de las células. El ácido nucleico del virus se integra en el ADN de la célula o persiste en forma episómica, dando lugar a una infección latente que puede ser muda o críptica, cuando el genoma no se expresa, o producir cambios en las funciones de la célula, cuando se manifiestan algunos genes. En ocasiones, al igual que en los estados de lisogenia, por circunstancias diversas se puede producir la activación del ácido nucleico, con la producción y liberación de virus completos, por lo que estas infecciones se han denominado también estados de virogenia.

En algunas infecciones integradas, el ácido nucleico del virus induce la síntesis de una proteína transformadora, que produce un estímulo proliferativo con la transformación o malignización de la célula y la formación de microtumores (virus oncógenos). Las células transformadas se caracterizan por diversas alteraciones morfológicas, metabólicas, cromosómicas y antigénicas, así como por la capacidad de inducir tumores por inoculación de animales de experimentación. En los cultivos celulares se caracterizan por su mayor potencial de crecimiento y sobre todo por la pérdida de la propiedad de inhibición por contacto, de manera que las células transformadas son capaces de multiplicarse indefinidamente (líneas celulares) en cualquier dirección, formando varias capas (microtumores). Se considera que la pérdida de esta propiedad está relacionada con el crecimiento anárquico y desordenado típico de las células malignas.

La infección por virus puede producir, además, la aparición en la célula infectada de *nuevos antígenos* y de cuerpos de inclusión (fig. 54-1). Cabe destacar en la membrana de la célula los antígenos de las proyecciones (hemaglutinina) de los virus con membrana de envoltura (mixovirus) y en las células transformadas los antígenos de trasplante y antígenos T, que, al reconocerse como extraños por los mecanismos de vigilancia inmunitaria, pueden producir el rechazo del tumor.

Los *cuerpos de inclusión* son estructuras o zonas alteradas de la célula, que se producen como consecuencia de los procesos de replicación de algunos virus. En su gran mayoría representan lugares de síntesis de los componentes del

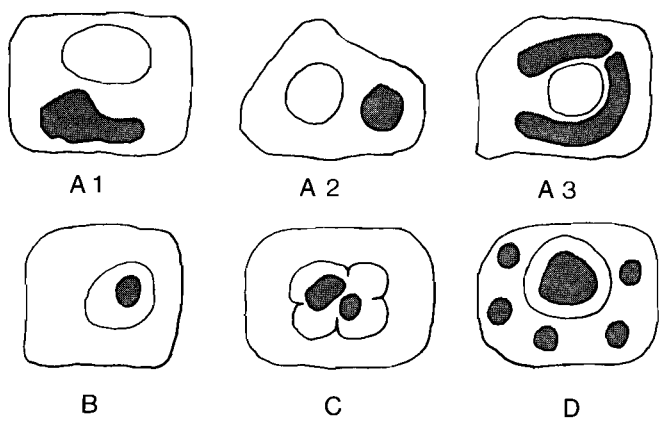


Fig. 54-1. Cuerpos de inclusión. A) Citoplásmicos eosinófilos: 1. Virus vacunal (cuerpos de Guarnieri). 2, Virus rábico (cuerpos de Negri). 3, Reovirus. Cuerpos perinucleares. B) Nuclear eosinófilo. Virus del herpes (inclusiones de Cowdry tipo A). C) Nuclear basófilo. Adenovirus. D) Nuclear eosinófilo y citoplásmicos basófilos. Citomegalovirus (cuerpos en ojo de lechuza).

virus (proteínas o ácidos nucleicos), zonas de integración o maduración, o simples acumulaciones de viriones, a veces en forma cristalina (adenovirus, reovirus). En otras ocasiones son alteraciones degenerativas de la célula producidas por el virus (virus rábico, herpesvirus).

Pueden ser únicos o múltiples, y presentar diferencias en cuanto a tamaño, forma y apetencias colorantes. Los más importantes son las inclusiones citoplásmicas eosinófilas, que se observan en las infecciones por poxvirus, rabdovirus, paramixovirus y reovirus, y las inclusiones nucleares, que pueden ser basófilas en las infecciones por adenovirus y eosinófilas en los herpesvirus.

En las infecciones por citomegalovirus se observa una gran inclusión intranuclear (en ojo de lechuza), que puede ser acidófila o basófila (anfófila), y frecuentemente se encuentra asociada con inclusiones citoplásmicas basófilas.

La demostración de cuerpos de inclusión es de interés en el diagnóstico de algunas virosis, como en la viruela y vacuna (CI de Guarnieri), rabia (CI de Negri), *molluscum contagiosum* (CI de Henderson-Patterson) y enfermedad por inclusiones citomegálicas (CI intranucleares en «ojo de lechuza»), y, además, permite efectuar el diagnóstico diferencial entre los casos dudosos de viruela (CI citoplásmicos) y de varicela (CI nucleares).

Capacidad lesional

Los virus pueden producir lesiones en las células y tejidos: *a)* por *acción directa*, como consecuencia del proceso de replicación intracelular, acción tóxica del virus o de sus componentes y *b)* por *acción indirecta* a causa de las alteraciones provocadas por mecanismo inmunológico o la propia reacción inflamatoria.

Acción directa

Durante el proceso normal de replicación intracelular de los virus se pueden producir alteraciones de la célula (acción citopática), en el citoplasma (picornavirus, poxvirus), el núcleo (adenovirus, herpesvirus) o la membrana (VRS, virus del sarampión), con la aparición o no de cuerpos de inclusión. En el citoplasma se producen alteraciones de las formaciones intracelulares (mitocondrias, aparato de Golgi, ribosomas), que se traducen por fenómenos de vacuolización, en el núcleo por desplazamientos de los nucléolos, engrosamiento y marginación de la cromática nuclear, y a veces fenómenos de picnosis, y en la membrana por fenómenos de fusión con las células vecinas y formación de sincitios, células gigantes o policariocitos.

Por otra parte, se pueden producir alteraciones citopáticas no asociadas con la producción de virus infeccioso, que pueden ser debidas a infecciones abortivas o a la acción tóxica de los viriones o las proteínas del cápside. Cuando se infectan cultivos de células HeLa con virus de la gripe, se produce una infección abortiva con alteraciones citopáticas, pero sin la producción de virus infeccioso.

Mecanismo inmunológico

En ocasiones, las alteraciones celulares y tisulares responsables de la enfermedad no son debidas al proceso de replicación del virus, sino que probablemente se producen por mecanismo inmunológico y responden a los cuatro tipos de fenómenos de hipersensibilidad de Gell y Coombs.

Reacción anafiláctica. El papel de la reacción anafiláctica en las infecciones víricas no se conoce con certeza, pero recientemente se ha observado que los virus que inducen la aparición de IgE pueden producir reacciones de tipo 1 como consecuencia de la liberación de sustancias vasoactivas, lo que explicaría la amplificación de la reacción inflamatoria y los fenómenos de hipersensibilidad inmediata (urticaria) que aparecen en el curso de algunas virosis.

Reacciones citotóxicas. Pueden ocurrir como consecuencia del mecanismo de replicación intracelular de los virus, ya que, en el curso de los procesos de síntesis, algunos antígenos del virus pueden emigrar y localizarse en la membrana de la célula y, por otra parte, durante el proceso de liberación se pueden incorporar al virus componentes de la membrana de la célula. Esto hace que los anticuerpos y los linfocitos sensibilizados frente a los virus puedan reaccionar con la membrana de las células normales e infectadas y producir lesiones celulares (citólisis inmune). Se han demostrado en el sarampión, neumonía por virus RS, exantemas de los poxvirus, fiebre amarilla, parotiditis y virus Coxsackie B.

Reacción por complejos inmunes. Se sospecha en las infecciones persistentes, sobre todo *cuando la enfermedad aparece al cabo de cierto tiempo*, como ocurre en las infecciones lentas del hombre, en la coriomeningitis linfocitaria del ratón y en la leucosis aviar. En estos casos se supone que la presencia continuada de virus en el organismo induciría una respuesta inmunitaria con la producción de pequeñas cantidades de inmunoglobulinas normales o alteradas, que formarían con los virus complejos Ag-Ac en la zona de exceso de antígeno, que presentarían una acción irritativa sobre el endotelio vascular y serían responsables de las alteraciones vasculares y renales por complejos inmunes que se presentan.

Ocurre especialmente cuando se produce la *infección del embrión* y el sistema inmunitario no está aún desarrollado, como en la rubéola, infecciones por citomegalovirus y coriomeningitis linfocitaria congénita del ratón. Parece que en estos casos se producen pocos anticuerpos que forman complejos inmunes, sin que se puedan detectar anticuerpos libres, los cuales en algunos casos serían los responsables de las alteraciones patológicas (pseudotolerancia inmunológica). Así, en la coriomeningitis congénita del ratón, al cabo de cierto tiempo se puede producir una nefritis por complejos inmunes.

Por otra parte, se ha observado que las infecciones por virus RS y del sarampión, cuando ocurren en niños menores de 6 meses o inmunizados con vacunas inactivadas del sarampión o del virus RS, presentan una mayor gravedad. Se han sugerido diversos mecanismos: fenómenos de citólisis inmune y de hipersensibilidad mediada por células o por complejos Ag-Ac cuando existe un desequilibrio entre la producción de anticuerpos locales y la de séricos. En este caso, una vez producida la infección, debido a la ausencia de anticuerpos locales en la mucosa respiratoria (IgA secretora), los virus podrían multiplicarse activamente a nivel local y, más tarde, combinarse con los anticuerpos séricos pa-

sivos de origen materno o producidos por la vacunación (vacuna inactivada), que se encuentran siempre en pequeña cantidad con la formación de complejos inmunes en la zona de exceso de antígeno y producción de lesiones a nivel local y general que aumentarían la gravedad de la infección.

Reacciones mediadas por células. Las alteraciones patológicas también pueden ser producidas como consecuencia de la respuesta inmunitaria de tipo celular. Así, se ha observado que, si se inoculan por vía intracerebral ratones adultos con el virus de la coriomeningitis linfocitaria, se produce una enfermedad progresivamente fatal, pero, si se inhibe la respuesta inmunitaria de tipo celular por irradiación, administración de inmunodepresores o suero antilinfocitario, la enfermedad no se produce, pero puede reaparecer cuando cesa la acción de estas sustancias inhibidoras.

En el sarampión, la respuesta inmunitaria de tipo celular es responsable de la producción del exantema y de la recuperación de la enfermedad. Esto se comprueba porque en las infecciones con virus del sarampión en personas con inmunodeficiencias de tipo celular (aplasia del timo, tumores linforreticulares) se observa el desarrollo progresivo del virus en los pulmones, con la producción de una neumonía de células gigantes generalmente fatal y sin la producción del exantema.

En la actualidad se considera que estos mecanismos inmunológicos contribuyen probablemente a la producción de lesiones en otras virosis, especialmente en las fiebres hemorrágicas producidas por arbovirus, en las infecciones lentas del tipo de la panencefalitis esclerosante subaguda y la leucoencefalopatía multifocal progresiva, e incluso en las infecciones por herpesvirus.

MODELOS DE INFECCION

Al igual que las bacterias, los virus pueden producir infecciones en el hombre y los animales. En este caso, los virus son patógenos y el grado de patogenicidad expresa su virulencia.

Aunque, a grandes rasgos, los virus citolíticos a nivel celular son patógenos y virulentos para el hombre o los animales y los virus no citolíticos no lo son, existen muchas excepciones. Es debido a que la acción patógena se puede producir no sólo como consecuencia de una acción directa de tipo citolítico, sino también por una acción no citolítica, que, cuando afecta células o tejidos determinados (endotelio vascular, SNC), puede dar lugar a alteraciones importantes de un órgano o su función. En general pueden distinguirse dos modelos de infección, infecciones agudas y persistentes, pero, además, los virus pueden inducir la aparición de tumores (capacidad oncógena).

Infecciones agudas

Son las mejor conocidas. En estos casos, después del contagio, el virus se multiplica en las células de la puerta de entrada (piel, aparato respiratorio o digestivo) y difunde en el organismo, dando lugar a una infección localizada o generalizada. En ambos casos, al cabo de cierto tiempo y en coincidencia por lo general con la resolución de la infección, el virus desaparece del organismo.

Período de incubación

Es el tiempo que media entre el contagio y la aparición de los primeros síntomas (tabla 54-1). En las infecciones localizadas de la piel y de las mucosas, el período de incubación suele ser corto, ya que la enfermedad es debida a la multiplicación del virus en las células de la puerta de entrada. Por el contrario, en las infecciones generalizadas es de mayor duración, pues los virus deben difundir en el organismo para alcanzar el órgano o tejidos susceptibles y producir los síntomas.

Cuadro clínico

Como consecuencia de la multiplicación del virus y de la reacción orgánica, se produce la infección. Cuando la infección no se manifiesta por signos ni síntomas, se produce una infección *inaparente* o *subclínica*, que sólo puede reconocerse por métodos serológicos. Las infecciones inaparentes son muy frecuentes en las virosis y representan un reservorio o fuente de infección desconocidos que facilitan la difusión del virus en la población. Pero, cuando se afectan un número suficiente de células con liberación de sustancias que producen una acción tóxica general o un número más limitado de células que son vitales para una determinada función, la infección se exterioriza, aparecen síntomas y signos, y se produce una *infección clínica* o *enfermedad infecciosa* de tipo agudo.

Tabla 54-1. Período de incubación y de contagio en algunas infecciones víricas

Enfermedad	Mecanismo de transmisión	Período de incubación (días)	Período de contagio
Resfriado común	Respiratorio	1-3	Breve
Gripe	Respiratorio	2-3	Breve
Herpes simple	Contacto	5-8	Prolongado
Infección por enterovirus	Digestivo	6-12	Prolongado
Poliomielitis	Digestivo	5-20	Prolongado
Sarampión	Respiratorio	9-12	Moderado
Parotiditis	Respiratorio	16-20	Moderado
Rubéola	Respiratorio	17-20	Moderado
Hepatitis A	Digestivo	15-40	Prolongado
Hepatitis B	Jeringuilla	50-150	Muy prolongado
Rabia	Mordedura animal	30-100	Ninguno

Tabla 54-2. Síndromes en las infecciones víricas

Síndrome clínico	Virus más frecuentes
Aparato respiratorio	
Resfriado común	Rinovirus, coronavirus (virus RS, parainfluenza, gripe A, adenovirus, virus Coxsackie y Echo, etc.)
Faringitis aguda	Adenovirus, virus Coxsackie, herpesvirus
Laringotraqueítis obstructiva	Virus parainfluenza (virus RS, gripe A)
Bronquiolitis	Virus RS (virus parainfluenza, gripe A)
Neumonitis	Virus RS, virus parainfluenza, gripe A, adenovirus
Sistema nervioso central	
Meningitis aséptica	Virus de la parotiditis, virus Coxsackie, virus Echo (herpesvirus, poliovirus)
Parálisis fláccidas	Poliovirus (virus Coxsackie, virus Echo, arbovirus)
Encefalitis	Arbovirus, virus Coxsackie, virus Echo, virus de la parotiditis y herpesvirus
Encefalitis postinfecciosas	Virus sarampión, parotiditis, varicela, gripe
Encefalopatías	
Síndrome de Reye	Virus de la gripe, virus de varicela-zoster
Panencefalitis esclerosante subaguda	Virus del sarampión
Leucoencefalopatía multifocal progresiva	Papovavirus, poliomavirus
Piel	
F. localizadas	
Verruga común	Papilomavirus
Molluscum contagiosum	Poxvirus
Herpes simple	Herpesvirus
Herpes zoster	Virus de varicela-zoster
F. generalizadas con exantema	
E. maculopapulosos	Virus del sarampión, virus de la rubéola, virus Coxsackie, virus Echo, arbovirus, virus EB
E. vesiculosos	Poxvirus, herpesvirus, virus de varicela-zoster, virus Coxsackie
E. hemorrágicos	Arbovirus, arenavirus, virus de la viruela
Aparato genitourinario	
Vulvovaginitis, cervicitis	Herpesvirus tipo 2
Orquitis, anexitis	Virus de la parotiditis
Cistitis hemorrágica	Adenovirus
Aparato digestivo	
Gastroenteritis	Rotavirus, virus Norwalk, astrovirus, coronavirus, calicivirus, adenovirus, virus Echo
Hepatitis	Virus de la hepatitis A, B y no A y no B, virus de la fiebre amarilla, citomegalovirus
Tejido muscular	
Miocarditis, pericarditis	Virus Coxsackie B (virus Coxsackie A, virus Echo)
Miositis, mialgias	Virus Coxsackie B, virus de la gripe, arbovirus
Conjuntiva, córnea, glándulas salivales	
Conjuntivitis, queratitis	Adenovirus, herpesvirus, virus de varicela-zoster, enterovirus 70, virus del sarampión, virus de la rubéola
Parotiditis	Virus de la parotiditis

Los virus presentan cierta predilección, o tropismo, por un órgano o tejido determinado, que, sin embargo, no es exclusiva. Por ello, un mismo cuadro clínico puede ser producido por diversos virus (síndrome clínico) y, a su vez, un mismo virus puede producir diversas manifestaciones clínicas, según los factores del virus (dosis, virulencia) y del huésped (puerta de entrada, tropismo, edad y estado inmunitario previo).

En general pueden producirse *infecciones localizadas* en las vías respiratorias, tubo digestivo y piel, e *infecciones generalizadas* con afectación predominante de la piel (exantema), sistema nervioso central o diversos órganos y tejidos (hígado, corazón, músculos, glándulas). En asociación con estas alteraciones celulares, se produce una reacción tisular, de naturaleza inflamatoria, caracterizada por la formación de edema y una acumulación de leucocitos mononucleares (linfocitos y monocitos), siempre que no se produzca una infección bacteriana secundaria. Según el tejido u órgano más afectados y la extensión e importancia de las lesiones, se presentan los diversos cuadros o síndromes clínicos, cuya gravedad puede ser diversa (formas leves, medianas y graves), hasta llegar a la muerte cuando se afectan órganos vitales o se originan infecciones secundarias. Los síndromes clínicos más importantes, con expresión de los virus que los producen con mayor frecuencia, se exponen en la tabla 54-2.

Infecciones bacterianas secundarias

En algunas virosis, como en la gripe y sarampión, como consecuencia de la infección se produce una disminución

de la resistencia inespecífica general o local asociada a un aumento de la capacidad de adherencia de las células epiteliales infectadas y a veces a la producción de sustancias que estimulan la multiplicación de las bacterias potencialmente patógenas de las mucosas (*S. pneumoniae, Klebsiella*), que pueden dar lugar a la aparición de infecciones secundarias que complican las virosis y a veces son las responsables de la gravedad de los casos (gripe y bronconeumonía, enterovirosis y gastroenteritis del lactante).

Infecciones y malformaciones congénitas

Cuando se produce una infección vírica en el curso del embarazo, el virus puede pasar a la sangre, atravesar el filtro placentario y afectar el producto de la concepción; es la transmisión vertical de la infección. Las infecciones graves causan por lo general la *muerte del embrión* o *del feto* (virus de la viruela); las infecciones menos graves, cuando ocurren durante el primer trimestre de la gestación, pueden afectar el proceso de diferenciación orgánica y dar lugar a *embriopatías* o malformaciones congénitas (virus de la rubéola, y virus Coxsackie B), pero, cuando ocurren en estadios más avanzados, pueden provocar infecciones del feto, fetopatías con la aparición en el recién nacido de microcefalia, coriorretinitis y alteraciones motoras (citomegalovirus); por último, en la mayoría de casos, el virus no altera el crecimiento y desarrollo del nuevo ser.

En algunas infecciones congénitas se puede desarrollar una tolerancia inmunológica total o parcial al virus causal, responsable de la persistencia de la infección, que explica la eliminación del virus durante mucho tiempo y la gran infecciosidad de estos cuadros.

Infecciones persistentes

A diferencia de las anteriores, son las infecciones ligadas a la persistencia del virus en el organismo durante largo tiempo, en una forma demostrable u oculta. Corresponden a una gran variedad de mecanismos y de cuadros clínicos, que se pueden agrupar en tres tipos fundamentales.

Infecciones crónicas

Se producen cuando, después de una infección aguda (clínica o inaparente), el virus persiste en los tejidos durante mucho tiempo en una forma demostrable. En la hepatitis B, cierto número de enfermos (1-5 %) quedan con una viremia persistente en el suero y constituyen los portadores crónicos. Las infecciones crónicas se observan sobre todo en las infecciones congénitas por el virus de la rubéola (diversos órganos) y el virus de la coriomeningitis linfocitaria del ratón, en que a consecuencia del mecanismo de tolerancia inmunológica se desarrollan anticuerpos en pequeña cantidad, de manera que el virus puede persistir largo tiempo y producir una infección crónica tolerada. Aunque en muchos casos no se demuestran alteraciones patológicas, en algunas infecciones congénitas pueden producirse enfermedades tardías de tipo inmunológico, como ocurre en la coriomeningitis linfocitaria del ratón, en que al cabo de mucho tiempo puede aparecer una glomerulonefritis por complejos inmunes.

Infecciones latentes

Se originan cuando, después de la primoinfección, el virus persiste en el organismo, generalmente en una forma no demostrable u oculta, y puede revelarse sólo si de forma intermitente se producen recurrencias endógenas de la enfermedad.

La primoinfección por herpesvirus tipo 1 se produce en la infancia en forma de estomatitis aguda o infección inaparente, pero el virus persiste en el organismo durante largo tiempo, probablemente en las neuronas de los ganglios nerviosos (trigémino) en una forma no demostrable, episómica o integrada (virogenia), lo que se conoce porque, cuando a intervalos de meses o años actúan factores predisponentes diversos y poco conocidos (fiebre, menstruación, rayos ultravioleta, trastornos digestivos, emociones), el virus se activa, por vía nerviosa llega a la piel y se produce un herpes labial, en que se puede aislar el virus. De la misma manera, la primoinfección por herpesvirus tipo 3 causa la varicela y el virus persiste en una forma oculta, probablemente en las neuronas de los ganglios nerviosos dorsales, y es posible que se originen reactivaciones endógenas por estímulos diversos, que se manifiestan por la aparición de un herpes zoster, que sigue la distribución de estos nervios. La primoinfección por el virus de Epstein-Barr suele ser asintomática, pero en ocasiones puede producir la mononucleosis infecciosa. Después de la infección, el virus persiste en algunos linfocitos B en forma latente, lo que se conoce porque dichas células presentan la propiedad de multiplicarse *in vitro* indefinidamente (inmortalización). Sin embargo, por circunstancias diversas y poco conocidas se puede producir la reactivación de la infección con la aparición del virus en el tejido linfoide. No se conoce si la activación del virus puede dar lugar a enfermedades en el hombre, pero se considera relacionada con la aparición del linfoma de Burkitt en los niños de las zonas tropicales de Africa Oriental, cuando intervienen otros factores coadyuvantes (genéticos, infecciones palúdicas frecuentes, inmunoestimulación o depresión); también se ha relacionado con el carcinoma nasofaríngeo (Africa, China), cuyas células contienen antígenos del virus, y con la aparición de enfermedades linfoproliferativas en personas inmunodeprimidas.

De la misma manera, la infección por citomegalovirus no se manifiesta, porque afecta grupos de células cuya infección queda limitada por los mecanismos naturales de defensa, pero con motivo de la administración de inmunodepresores puede producirse la activación y difusión del virus, lo que da lugar a una infección aparente.

Infecciones lentas

Son infecciones persistentes caracterizadas por presentar un largo período de incubación, que puede durar meses y aun años, durante el cual la concentración de virus aumenta de forma gradual, seguido del desarrollo lento y progresivo de lesiones y síntomas que abocan a una enfermedad grave, generalmente fatal. Se incluyen diversas enfermedades de los animales y del hombre, de etiología poco conocida:

Encefalopatías espongiformes. Cabe citar el *scrapie* de los corderos, el kuru y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob del hombre, en los que no se ha podido aislar el agente cau-

sal, pero, por su resistencia al calor y a diversos antisépticos y no haberse podido demostrar respuesta inmunitaria, se ha sugerido la intervención de priones.

Otras encefalopatías del hombre. Deben citarse:

Panencefalitis esclerosante subaguda. Se considera una infección lenta, producida por el virus del sarampión. Aparece en personas de 2-20 años que habían padecido el sarampión anteriormente, y es una enfermedad poco frecuente (1 × 100.000-300.000). El virus se encuentra en el SNC, pues en las células nerviosas del cerebro se han observado por microscopia electrónica inclusiones intranucleares semejantes a nucleocápsides, se ha demostrado la presencia de antígenos del virus y por cocultivo de células infectadas con células susceptibles se ha podido aislar en algunas ocasiones un virus semejante al del sarampión. Se considera que la infección sería producida por un virus defectivo, y ciertos datos sugieren una incapacidad de síntesis de la proteína de la envoltura (proteína M), que, si bien impediría la maduración del virus por evaginación de la membrana, permitiría la transmisión directa de célula a célula. La presencia de grandes cantidades de antígeno en el SN produce una síntesis local de anticuerpos que pueden demostrarse por la presencia de títulos elevados en el suero y LCR.

Encefalitis progresiva. Es un cuadro semejante al anterior, que se ha observado en niños afectos anteriormente de rubéola congénita y en los que se ha podido aislar por cocultivo el virus de la rubéola.

Encefalopatía multifocal progresiva. Aparece en personas inmunodeprimidas de 30-70 años de edad, como consecuencia de enfermedades del sistema linfático, sobre todo de enfermedad de Hodgkin, y menos veces por tratamiento con inmunodepresores. Es debida a la activación de un papovavirus latente, y se han aislado de las lesiones dos virus (SC y BK) semejantes al virus SV40. Produce inclusiones intranucleares con destrucción de las células gliales, que conducen a la desmielinización. El diagnóstico de laboratorio por aislamiento del virus es difícil, y, además, se produce una respuesta pobre en anticuerpos como consecuencia de la inmunodepresión.

Mecanismo de la persistencia

No se conoce con certeza, pero se considera que puede ser debido a características especiales del virus, como la presencia de virus no citocidas, virus defectivos, virus poco inmunógenos o no inmunógenos (priones) y genomas integrados (infecciones latentes). También puede depender de las defensas del huésped, sobre todo cuando la infección se desarrolla en lugares protegidos del sistema inmunitario, como en las células nerviosas (virus del herpes y de la varicela-zoster) o en las propias células del sistema inmune, linfocitos (citomegalovirus, virus EB); asimismo cuando la respuesta inmunitaria es muy débil por tolerancia inmunológica, como ocurre en las infecciones congénitas, o cuando como consecuencia de la infección se produce una supresión parcial de la inmunidad humoral o celular por mecanismos diversos, que puede facilitar la infección, como en algunas infecciones lentas. En la panencefalitis esclerosante subaguda, además de la hipótesis del virus defectivo, se ha sugerido la posibilidad de que los anticuerpos en asociación con la vía alternativa del complemento puedan haber producido una alteración y eliminación de los antígenos del virus localizados en la membrana de las células, de manera que la célula infectada quedaría protegida de la citólisis inmune, de tipo humoral o celular.

Capacidad oncógena

Cierto número de virus, pertenecientes a cuatro familias de virus ADN *(papovaviridae, herpesviridae, poxviridae* y *adenoviridae)* y una de virus ARN *(retroviridae),* son capaces de producir la transformación maligna de las células de los cultivos celulares e inducir la aparición de tumores por inoculación en los animales de experimentación (v. cap. 68).

Estos virus se encuentran muy difundidos en la naturaleza y producen tumores en diversas especies animales. En el hombre se conoce la existencia de tumores benignos producidos por virus y se sospecha su asociación con tumores malignos por la observación de lo que ocurre en los animales y algunos datos experimentales; el más evidente es la asociación del virus de Epstein-Barr con el tumor de Burkitt (linfoma infantil africano).

RESISTENCIA E INMUNIDAD

La resistencia y la inmunidad en las infecciones víricas presentan algunos caracteres especiales como consecuencia del hábitat intracelular de los virus.

Resistencia inespecífica

Al igual que en las infecciones bacterianas, depende de una serie de factores naturales del huésped de tipo celular, humoral o tisular (epitelio cutaneomucoso, factores físicoquímicos, fagocitosis, sustancias inhibidoras), que actúan dificultando la infección y difusión del virus en el organismo o acelerando el restablecimiento del proceso, y se encuentran relacionados con la edad, estado nutritivo, factores hormonales, infecciones asociadas, traumatismos y fármacos inmunodepresores, así como con factores genéticos. Entre estos factores inespecíficos destacan el fenómeno de interferencia y la producción de interferón.

Fenómeno de interferencia e interferón

El fenómeno de interferencia fue descrito por vez primera al observar que la inoculación de la cepa neurotropa del virus de la fiebre amarilla por vía subcutánea al mono lo protegía de la cepa viscerotropa que normalmente produce la muerte del animal, y se observó más tarde que dicho fenómeno no guardaba relación, al parecer, con la inmunidad ni con la producción de anticuerpos específicos.

Para que se produzca el fenómeno, es necesario que el virus bloqueante se administre con cierta ventaja, antes que el segundo virus o a mayor concentración; la interferencia se presenta con relativa rapidez, pero en general dura poco tiempo. Puede tener lugar entre virus no relacionados, o *heterointerferencia* (virus de la gripe y virus de la encefalitis

equina occidental), virus relacionados antigénicamente o *isointerferencia* (entre poliovirus o togavirus del grupo A), y entre virus que presenten la misma composición antigénica, o *autointerferencia* (virus completos e incompletos, virus activos o inactivados). Dicho fenómeno puede demostrarse en animales inoculados, en embrión de pollo y en cultivos celulares.

El fenómeno de interferencia explicaría la diferente distribución geográfica de algunas virosis, como la ausencia de fiebre amarilla en Egipto y la India, donde existen infecciones por otros togavirus, como el virus de la fiebre del Nilo Occidental, y en América Central por el virus del dengue.

Asimismo, cuando la cepa bloqueante es apatógena o poco patógena, puede inhibir el desarrollo de una cepa patógena, mecanismo de profilaxis distinto de la inmunidad. Se ha empleado para el control de las epidemias de poliomielitis, pues la administración de poliovirus atenuados por vía oral (vacuna Sabin) evita por fenómeno de interferencia la infección de las células sensibles por los poliovirus salvajes. También la administración de un virus respiratorio atenuado o poco virulento puede evitar las infecciones por un virus virulento no relacionado. En estos casos, la protección se establece rápidamente, pero es de corta duración (2-6 semanas), de manera que, cuando el primer virus desaparece, las células se hacen pronto sensibles a la infección por otros virus.

Por tanto, el fenómeno de interferencia puede desempeñar un papel en la profilaxis de las virosis en la puerta de entrada, junto con otros factores inmunitarios, como la producción de anticuerpos locales (IgA secretora), pero que se diferencian porque éstos son específicos, aparecen más tardíamente (5-8 días) y persisten durante más tiempo (meses a pocos años).

El mecanismo del fenómeno de interferencia no se conoce con certeza, pero se supone que puede producirse a dos niveles distintos:

a) A nivel de los receptores de la membrana celular (interferencia de fijación), cuando el primer virus bloquea los receptores de la célula por ocupación física o destrucción enzimática (neuraminidasa).

b) A nivel intracelular, cuando el primer virus induce la *síntesis de productos de origen vírico*, que interfieren con la replicación del segundo virus, lo que puede ocurrir entre virus homólogos (virus defectivos y completos) o entre virus heterólogos (poliovirus y virus Sindbis). Pero, además, el fenómeno de interferencia también puede ser mediado por *proteínas de origen celular*, inducidas por la infección vírica, que se denominan interferón.

Interferón

El interferón está constituido por un grupo de proteínas sintetizadas por las células en respuesta a la acción de virus o de otros inductores, que presentan acciones diversas. Su propiedad más importante es la de inhibir la replicación intracelular de los virus en las células de la misma especie o de especies relacionadas, pero, además, se han demostrado otras propiedades biológicas sobre el huésped, como la acción inhibidora sobre el crecimiento de las células normales y malignas, y la acción estimulante sobre la fagocitosis y moduladora de la respuesta inmune.

Origen celular y clases. El interferón es un producto de origen celular, que puede ser producido:

1. Por células diversas sometidas a la acción de inductores. Es el interferón de tipo 1, del que se conocen dos variedades.

a) El interferón de leucocitos o *interferón* α, obtenido a partir de concentrados de leucocitos, que se caracteriza por su estabilidad al calor (70 °C durante 30 min) y a pH ácidos (pH 2).

b) El interferón de fibroblastos o *interferón* β, obtenido en cultivos de fibroblastos, que presenta la misma estabilidad a los ácidos, pero es más termolábil.

2. Por linfocitos T después de activación inmunológica. Es el interferón de tipo 2, *interferón inmune* o *interferón* γ, que, a diferencia de los anteriores, es termolábil y acidolábil. La activación puede ser específica, cuando los linfocitos sensibilizados se activan por el antígeno correspondiente, o inespecífica, cuando los linfocitos normales se estimulan por mitógenos, como la fitohemaglutinina, y en estos casos el interferón se comporta como una linfoquina.

Estos tipos de interferón, especialmente los dos primeros, se han podido obtener y purificar en el laboratorio, y constituyen el *interferón exógeno*, que se emplea en los ensayos profilácticos y terapéuticos. Pero, además, puede lograrse la producción de interferón por las células del propio organismo del hombre y de los animales *(interferón endógeno)*, mediante la administración de inductores, que por el momento no ha sido eficaz debido a la toxicidad de los inductores y a la existencia de un período refractario en la síntesis de interferón después de la primera dosis, que impide la administración de dosis repetidas.

Naturaleza química. Está constituido por un grupo heterogéneo de proteínas, cuya naturaleza química no se conoce con certeza. Presentan una serie de propiedades comunes, pues en su mayoría son glicoproteínas de bajo peso molecular (12.000-15.000), débilmente antigénicas y no tóxicas ni alérgicas para el organismo humano. La heterogeneidad está en relación con su procedencia, pues se ha observado que el interferón obtenido de una misma especie animal difiere en sus propiedades físico-químicas, antigénicas y de acción farmacocinética, según se trate de interferón de tipo 1 ó 2 y en el primer caso según sea obtenido de leucocitos o fibroblastos. Por otra parte, los anticuerpos obtenidos a partir de interferón de fibroblastos (antígeno F) neutralizan el interferón homólogo, pero no el obtenido de leucocitos, mientras que los anticuerpos obtenidos de interferón de leucocitos (antígenos L y F) neutralizan ambos tipos de interferón. De la misma manera, el interferón de tipo 1 difiere antigénicamente del tipo 2.

Inducción inespecífica. El interferón de tipo 1 se produce por la acción de inductores diversos. Según su actividad se han clasificado en dos clases:

Inductores muy activos o de clase A. Son capaces de inducir la producción de interferón endógeno o exógeno. Incluyen diversos virus (virus ARN o ADN, virus activos o inactivados) y productos que contienen ácidos nucleicos, en especial ADN bicatenario natural o sintético (poly I:C).

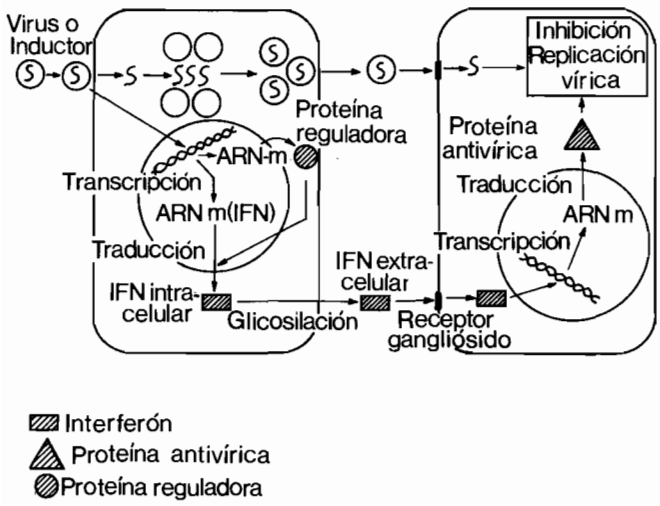


Fig. 54-2. Mecanismo de síntesis y de acción del interferón.

Inductores menos activos o de clase B. Sólo inducen la producción de interferón endógeno. Comprenden diversos microorganismos, que se comportan como parásitos intracelulares (bacterias, rickettsias, clamidias), productos bacterianos (lipopolisacáridos, proteínas, polisacáridos), polímeros (polifosfatos, polisulfatos) y sustancias de peso molecular bajo (tilorone, statolon, propanodiamina, cicloheximida).

Síntesis. El interferón es un producto de síntesis celular (fig. 54-2). La información para la producción de interferón forma parte del genoma de la célula, probablemente del cromosoma 9, pero no se expresa debido a la presencia de un represor. Cuando se produce la infección vírica de una célula, el ácido nucleico del virus, a la vez que inicia el proceso de replicación, induce la síntesis de interferón. En este caso se combina con el represor produciendo su inactivación o desrepresión, lo que permite a la célula la síntesis de interferón, que después de glicosilación en la membrana se libera y puede ejercer su acción en la misma célula o en otras.

Acción sobre las células. El interferón actúa combinándose con receptores localizados en la superficie de otras células, posiblemente gangliósidos, en las que producen la desrepresión de un nuevo gen celular que codifica la síntesis de una nueva proteína antivírica que inhibe la replicación del virus. Puede actuar en cualquiera de las etapas del proceso de replicación, pero parece probable que actúe en los mecanismos de traducción del ARNm, inhibiendo la síntesis de proteínas víricas sin afectar el ARMm de la célula. En estos procesos intervienen fermentos (proteinquinasas, 2,5A polimerasas, nucleasas) y pequeñas cantidades de ARN bicatenario. Poco después de iniciada la síntesis de interferón, se ha supuesto que se induce la aparición de una nueva proteína reguladora, que limitaría su síntesis.

El interferón es un producto muy activo, pues la dosis para el hombre es sólo de algunos microgramos de proteína pura, lo que supone una actividad semejante a la de algunas hormonas. Presenta una acción inespecífica y de amplio espectro, pues inhibe el proceso de replicación de diversos virus no relacionados, virus ADN y ARN (inespecificidad vírica). Sin embargo, sólo puede sintetizarse en células de la misma especie o especies relacionadas, de manera que el interferón activo para el hombre debe ser necesariamente producido en células humanas o de primate (especificidad celular).

Acción en el organismo. En el curso de la infección, el interferón aparece precozmente (fig. 54-3), presenta su máxima acción en las células y tejidos cercanos al lugar de producción, aunque no está descartado que también pueda actuar en órganos alejados, y su acción se mantiene durante poco tiempo. Después del primer estímulo se produce un período refractario en la síntesis de interferón, de duración variable, mientras persiste el estado de resistencia producido por el primer estímulo.

Se supone que en circunstancias naturales interviene en la *recuperación y restablecimiento de las infecciones víricas*, pues se ha observado que, a diferencia de las infecciones bacterianas, las personas con hipo o agammaglobulinemia presentan un curso normal en muchas virosis, a pesar de no demostrarse anticuerpos neutralizantes en la sangre y líquidos tisulares, lo que se considera probablemente debido a la acción del interferón o de sustancias análogas. Por otra parte, la disminución en la producción de interferón por la acción de temperaturas bajas o sustancias inhibidoras se ha relacionado con una falta de recuperación en las virosis.

De la misma manera, en ratones inoculados con virus de la gripe se ha observado que la eliminación del virus y el restablecimiento del proceso coinciden con la producción máxima de interferón, y en estas condiciones el animal se hace resistente a la infección por otros virus (togavirus). La sensibilidad de los ratones lactantes al virus Coxsackie se considera debida a que son malos productores de interferón, mientras que los adultos, por producirlo en mayor cantidad, son resistentes al virus. La administración de cortisona o de un suero antiinterferón los hace susceptibles.

Se considera, por tanto, que, en las infecciones víricas, el interferón acelera la curación del proceso no como consecuencia de un aumento general de interferón en el organismo, sino por la producción de concentraciones elevadas y transitorias en la inmediata vecindad de las células infectadas, lo que evita la difusión de la infección.

Se han puesto grandes esperanzas en su empleo en clínica, y se ha considerado el interferón como el antibiótico o la penicilina de las virosis, pero, debido a la dificultad de su obtención, sólo ha podido utilizarse en contadas experiencias controladas. Los resultados de estos ensayos clínicos han demostrado su eficacia en las infecciones localizadas, mientras que en las infecciones generalizadas no han sido concluyentes.

Por vía tópica se ha empleado en el tratamiento de la queratitis herpética y en la prevención de las recurrencias, así como en las profilaxis de algunas virosis respiratorias (adenovirosis, gripe y resfriado común), y por vía general en el tratamiento del herpes zoster, varicela, rabia y hepatitis B, y para prevenir las infecciones por citomegalovirus en trasplantes renales o de bazo. Los resultados no han sido demostrativos, pero se ha observado una mayor actividad del interferón obtenido de leucocitos, sobre todo cuando se emplea como profiláctico, pues, una vez establecida la infección, su acción es más aleatoria.

Por otra parte, además de su acción antivírica, el interferón presenta una acción reguladora en el mantenimiento de

la homeostasis orgánica. Entre sus principales efectos se debe señalar:

1. Una acción moduladora de la respuesta inmune. A este respecto se ha demostrado que el interferón estimula la acción de los macrófagos y la fagocitosis, la acción citotóxica producida por los linfocitos T y células K, y especialmente las células NK que intervienen en los mecanismos de defensa frente a los virus y tumores.
2. Una acción general inhibidora sobre el crecimiento y multiplicación de determinados tipos de células, que explica la acción depresora del interferón sobre la respuesta inmune y sobre todo su acción antitumoral. Recientemente se han efectuado algunas pruebas no controladas, que han demostrado su acción en algunas formas de cáncer, especialmente en el sarcoma osteogénico, y se han obtenido resultados esperanzadores en el mieloma y los papilomas de laringe.

Hasta el presente, las técnicas de obtención de interferón exógeno a partir de donantes de leucocitos sólo han logrado una producción mundial muy limitada (10^{11} U/año). La introducción de los cultivos de fibroblastos diploides ha permitido aumentar la producción (10^{15} U/mes), y existen grandes esperanzas de obtenerlo en gran escala por técnicas de ingeniería genética, pues se ha podido transferir el gen que codifica el interferón humano a plásmidos de *E. coli*. La obtención de interferón exógeno purificado en cantidad y a un costo razonable permitirá conocer con certeza su importancia en el tratamiento y profilaxis de las virosis.

Inmunidad adquirida

Como consecuencia de la infección se produce una respuesta inmunitaria humoral y celular de diferente intensidad, según las características de las virosis.

Inmunidad humoral

Depende de la aparición de anticuerpos específicos frente a los diversos antígenos del virus, especialmente de los que se encuentran en su superficie (envoltura, cápside) (fig. 54-3). Estos anticuerpos se detectan: *a)* En la sangre y líquidos orgánicos (anticuerpos séricos); aparecen primero las IgM y más tarde las IgG e IgA, que persisten durante largo tiempo; la presencia de IgM es indicativa de una infección reciente. *b)* En la superficie de las mucosas, o anticuerpos locales (IgA secretora), que aparecen cuando la infección se inicia en las mucosas o éstas se afectan posteriormente y cuya persistencia es mucho menor.

Los anticuerpos específicos se combinan con los virus libres y neutralizan su acción (anticuerpos neutralizantes) en las mucosas (IgA secretora) evitando la infección en la puerta de entrada, o en la sangre y tejidos (IgG, IgM, IgA) previniendo la diseminación, generalmente por vía sanguínea (viremia), y la aparición de la enfermedad. Los anticuerpos neutralizantes constituyen los anticuerpos protectores por excelencia, base de la inmunidad humoral.

El mecanismo de la neutralización no se conoce con certeza, pero parece que los anticuerpos producen cambios de conformación en las proteínas del virión (capsómeros), que inhiben la infección de la célula en algunas de sus fases iniciales (adherencia, penetración, liberación del ácido nucleico). Por otra parte, la unión virus-anticuerpo en presencia

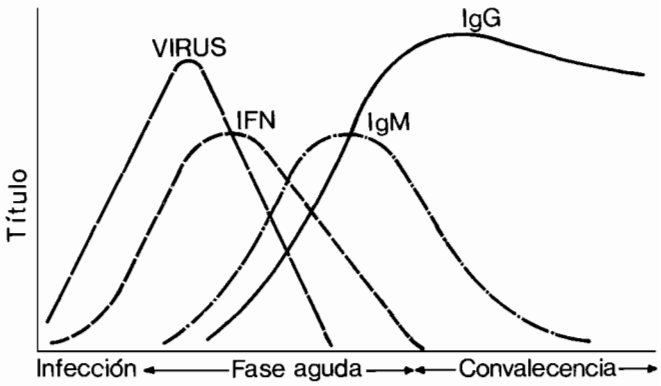


Fig. 54-3. Producción de virus, interferón y anticuerpos (IgM e IgG) en las infecciones víricas agudas.

de complemento puede producir la lisis del virus, o los complejos formados pueden ser más fácilmente fagocitados (tabla 54-3).

Los anticuerpos, a diferencia del interferón, no actúan sobre los virus en situación intracelular ni evitan la diseminación por contigüidad a través de los puentes intercelulares, pero en las células infectadas pueden combinarse con los antígenos del virus localizados en la membrana citoplásmica de la célula y, previa fijación del complemento, producir un incremento de la fagocitosis o la lisis de la célula infectada (citólisis inmune).

Estos datos indican que, si bien los anticuerpos humorales pueden evitar la infección y la enfermedad, no intervienen en la recuperación ni en el restablecimiento de las virosis, como se demuestra en los pacientes con agammaglobulinemia o con deficiencia selectiva de IgA, que no presentan un curso más prolongado o más grave de la enfermedad.

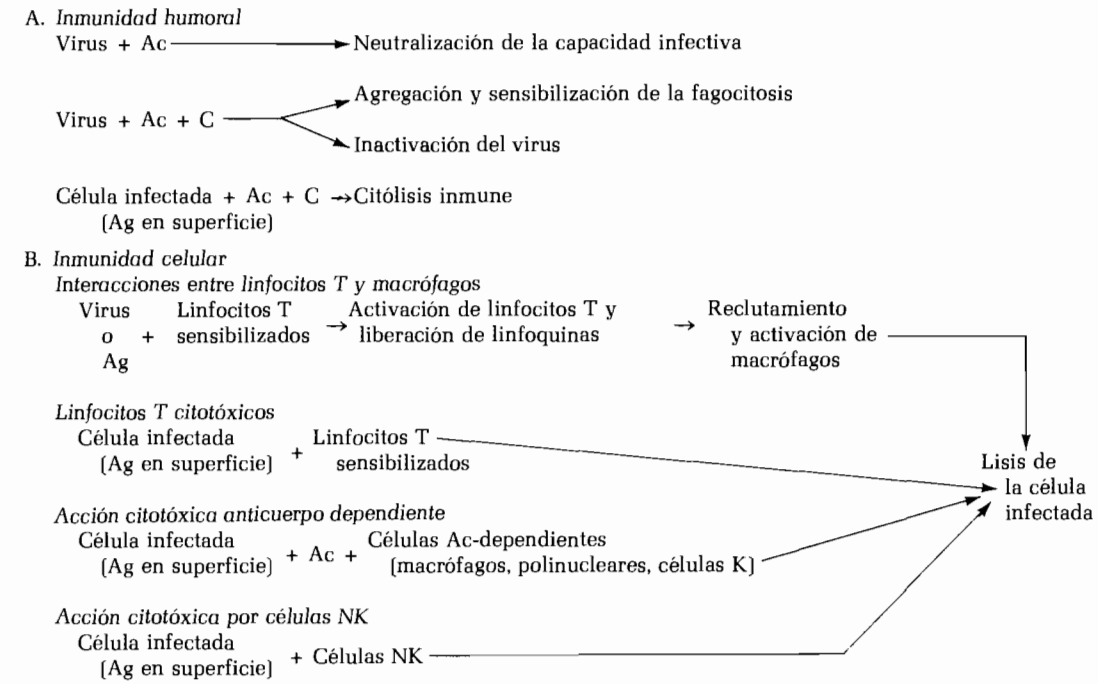
La inmunidad por lo general es tipoespecífica y protege frente al mismo tipo antigénico productor de la infección, de manera que en aquellos virus que presentan una composición antigénica heterogénea pueden producirse infecciones por los restantes serotipos.

En las infecciones generalizadas (poliomielitis, sarampión, rubéola, viruela), la inmunidad es debida a la neutralización del virus en la fase de viremia, que impide la infección de las células sensibles (células diana) y la producción de la enfermedad. En estos casos se produce una inmunidad intensa y de larga duración (respuesta primaria y secundaria), que se encuentra asociada a la presencia de anticuerpos neutralizantes en la sangre, que persisten durante mucho tiempo, y, además, a la producción de reinfecciones, que cursando en su mayoría en forma inaparente incrementan el título de anticuerpos por reacción anamnésica.

Por el contrario, en las infecciones localizadas en las mucosas (virosis respiratorias), aunque se produce una respuesta inmunitaria por anticuerpos séricos y locales, la inmunidad va ligada a la presencia de anticuerpos locales (IgA secretora), que persisten durante menos tiempo (de 1 a 5 años en las virosis respiratorias), lo que explica la posibilidad de reinfecciones por el mismo serotipo y la selección de cepas que presentan pequeñas diferencias antigénicas (variantes menores).

La combinación virus-anticuerpo no siempre representa la neutralización de la infectividad del virus, sino que a

Tabla 54-3. Mecanismos específicos de defensa en las infecciones víricas



veces los complejos formados conservan su capacidad infecciosa (anticuerpos no neutralizantes), circulan por el organismo y no se detectan en estos casos anticuerpos libres. Se observa en la CML del ratón y en el hombre en las infecciones por virus de la hepatitis B y virus de Epstein-Barr en los pacientes con linfoma de Burkitt. En la actualidad, la obtención de anticuerpos monoclonales por la técnica de hibridomas ha permitido determinar los diversos antígenos de un virus, seleccionar los antígenos específicos de los serotipos y obtener antisueros de mayor especificidad y sensibilidad, de gran importancia para la detección de antígenos del virus en los productos de los enfermos y el diagnóstico rápido de las virosis.

Inmunidad celular

La importancia de la inmunidad celular deriva del conocimiento de la existencia de fenómenos de hipersensibilidad retardada en algunas virosis y de la observación de que los pacientes con inmunodeficiencias naturales o adquiridas de los linfocitos T (leucemias, linfomas) presentan un aumento de la susceptibilidad y se recuperan mal de las virosis, especialmente por los virus que se transmiten de célula a célula, como el virus vacunal, virus del herpes, virus de la varicela, virus del herpes zoster, citomegalovirus y virus del sarampión. Por otra parte, la inmunidad celular mantiene los estados de latencia, de manera que, cuando se producen alteraciones (edad, quemaduras, tratamiento con inmunodepresores), aparece una recurrencia endógena. Hay que tener en cuenta que muchas de estas virosis producen a su vez inmunodepresión, porque los virus son capaces de multiplicarse en los macrófagos o linfocitos. Por esto, la recuperación y el restablecimiento de la virosis están relacionados con la producción de interferón, que limita la diseminación del virus a otras células, y con el desarrollo de una inmunidad celular adecuada, que a su vez mantienen los estados de latencia.

Estas observaciones se han comprobado en estudios experimentales en modelos animales, en que la administración de suero antilinfocito o antitimocito, sin que afecte la inmunidad humoral ni la producción de interferón, aumenta la frecuencia de las infecciones por herpesvirus y poxvirus, aunque la inmunidad puede restablecerse por transferencia de células esplénicas inmunes, pero no por la administración de anticuerpos. Por el contrario, la administración de suero antilinfocito no incrementa la susceptibilidad de infecciones por enterovirus y virus de la gripe.

En la respuesta inmune celular intervienen los linfocitos T, los macrófagos, las células K *(killer)* y NK *(natural killer)* (tabla 54-3). Se considera que *a)* los linfocitos T sensibilizados en contacto con los virus o sus antígenos producen linfoquinas, las cuales intervienen en la respuesta inflamatoria (factores quimiotácticos, de activación e inmovilización de los macrófagos) y en la destrucción de las células infectadas, así como interferón inmune de acción antivírica, y *b)* los linfocitos T sensibilizados pueden producir, además, la destrucción de las células infectadas que presenten antígenos en su superficie (acción citotóxica). Por otra parte, también puede producirse una acción citotóxica: por células anticuerpo-dependientes (células K, macrófagos, polinucleares), que presentan en su membrana receptores para la extremidad Fc de los anticuerpos específicos, los cuales por este mecanismo adquieren especificidad, como se ha observado en los virus con membrana. Por último, hay una acción citotóxica por células K naturales (células NK), que sin el concurso de anticuerpos son capaces de atacar diversos tipos de células normales o infectadas de la misma especie, a diferencia de las anteriores. Actúan en las infecciones por virus con membrana y posiblemente son activadas por interferón.

DIAGNOSTICO

Los métodos de diagnóstico de las infecciones producidas por virus pueden dividirse en dos grandes grupos: métodos directos basados fundamentalmente en el aislamiento del virus de los productos del enfermo y métodos indirectos dirigidos a la demostración de un aumento del título de anticuerpos en el curso de la enfermedad. Como estos métodos suministran por lo general resultados tardíos, han surgido técnicas de diagnóstico rápido, que se están desarrollando en la actualidad (tabla 54-4).

Métodos de aislamiento

Constan de tres etapas: toma de muestras, inoculación e identificación del virus aislado.

Toma de muestras

Antes de la inoculación es necesario efectuar una serie de operaciones preliminares que son de importancia fundamental, pues de su correcta ejecución depende muchas veces el éxito del aislamiento. Se debe *seleccionar la muestra* que tenga mayores probabilidades de contener el virus (secreciones respiratorias, heces, LCR, orina) y *obtenerla en el momento oportuno*, especialmente en los comienzos y fase aguda de la enfermedad (menos de 5 días), pues, más adelante con la aparición de los anticuerpos, el aislamiento es cada vez más difícil. La *toma de la muestra* debe ser *selectiva:* las secreciones respiratorias se obtienen por frotis nasal y faríngeo enérgico mediante hisopo o lavado faríngeo; el material de las vesículas, por recogida del líquido vesicular o rascado de la base de las vesículas, las muestras de heces, LCR, orina, sangre, y el material *post mortem* por los procedimientos habituales.

Las muestras deben colocarse en un medio de transporte (solución salina equilibrada con antibióticos y medio proteico protector) que facilite la supervivencia del virus e inhiba el desarrollo de las bacterias contaminantes. El transporte debe realizarse a baja temperatura, y puede conservarse el producto a 4 °C durante 24 horas o a –70 °C durante largo tiempo. El envío de virus peligrosos (virus de la viruela, de la fiebre de Lassa, virus Marburg y Ebola) debe efectuarse colocando el recipiente que contiene la muestra en el interior de otro recipiente, del que está separado por material absorbente, y todo ello dentro de una caja para el envío.

Inoculación

Se practica en animales de experimentación, huevos embrionados o cultivos celulares. Los dos primeros sólo se utilizan en casos especiales; la inoculación en animales, generalmente ratones, se efectúa para el aislamiento del virus rábico, de algunos virus Coxsackie A y togavirus, y la inoculación en huevo embrionado ha quedado reducido en virología clínica al aislamiento del virus gripal A. De ahí que, como método general de aislamiento, se utilice la inoculación en los tres tipos de cultivos celulares, células primarias, cepas de células diploides humanas y líneas celulares heteroploides. Los dos primeros presentan un amplio espectro de sensibilidad, pues permiten el aislamiento de gran número de virus, pero son los más costosos y difíciles de obtener. Por el contrario, las células de línea continua presentan un espectro de sensibilidad más reducido, pero son fáciles de conservar por pases en el laboratorio. Deben emplearse dos tipos de cultivos celulares, uno de células primarias o diploides y otro de células de línea, pero incluso con dos líneas en buenas condiciones, una de células neoplásicas (HEp–2 ó KB) y otra de células normales (Vero), pueden aislarse un buen número de virus (virus RS, adenovirus, herpesvirus, poliovirus, algunos virus Coxsackie y ECHO, virus de la rubéola y algunos togavirus).

Identificación

La identificación del virus aislado se realiza en dos etapas; en primer lugar, se efectúa el diagnóstico provisional de familia o de grupo basándose en el cuadro clínico del enfermo, el animal o el tipo de células, en que se ha desarrollado el virus y la manifestación visible de su crecimiento, ya sea por la acción citopática, el fenómeno de la hemaglutinación, el de la hemadsorción o, si se ha practicado la inoculación en la MCA del embrión de pollo, las lesiones (*pocks*) producidas en la membrana. La identificación final o el diagnóstico de certeza se efectúan por pruebas serológicas utilizando como antígeno el virus aislado. En aquellas familias que tienen un antígeno de grupo común, como los adenovirus o el virus gripal A, puede llegarse al diagnóstico de familia o grupo por medio de la reacción de fijación del complemento (RFC), que es grupoespecífica, y a la identificación del serotipo por la reacción de neutralización (NT) o de inhibición de la hemaglutinación (IH), que son tipoespecíficas. Estas pruebas en aquellos grupos que están compuestos por muchos serotipos pueden ser muy laboriosas, pues se tiene que ensayar el virus aislado con los sueros específicos de todos los tipos, lo cual es el cometido de centros especializados.

En la actualidad se utilizan sueros polivalentes, constituido cada uno por mezclas de sueros con algunos de ellos comunes con otros grupos (*intersecting serum pools*), que simplifican la prueba.

Métodos serológicos

Se basan en la demostración de un aumento del título de anticuerpos durante el curso de la enfermedad. Para esto es fundamental la obtención de dos muestras de suero del enfermo, una durante los primeros días de la enfermedad, cuando aún no existen anticuerpos en el suero o se encuentran a bajo título (suero precoz o en fase aguda), y otra a las 2-3 semanas cuando el título de anticuerpos es elevado (suero tardío o en fase de convalecencia), y se llega al diagnóstico de infección reciente por la aparición de anticuerpos en la segunda muestra (seroconversión) o la demostración de un título cuatro veces superior (aumento significativo). Cuando se demuestran títulos bajos y semejantes en las dos muestras o existen diferencias de títulos no significativas (menos de 4 veces en la segunda muestra), el resultado es indicativo de infección anterior. Sin embargo, cuando en ocasiones los sueros se obtienen tardíamente, la demostración de títulos elevados en las dos muestras o la de una dis-

Tabla 54-4. Métodos de diagnóstico en las infecciones por algunos virus

Infecciones por	Aislamiento				Serología		
	Producto	Inoculación	Acción citopática	C. de inclusión	Hemaglutinación y hemadsorción	Detección de anticuerpos	Detección de antígenos
Virus de la gripe	Ex. faríngeos y nasales; PM (pulmón)	HE: AM, AL CC: PR (HU, RM)	Escasa, inconstante	ICB (*M. influenzae* tipo B)	HA y HD (humano, pollo, cobayo)	FC, IH	IF, ELISA
Virus parainfluenza	Ex. faríngeos y nasales: PM (pulmón); esputo	CC: PR (RM, REH)	Sincitios (tipo 2)	ICE	HD y HA (cobayo, humano y pollo)	FC, IH, ELISA	IF, ELISA
Virus respiratorio sincitial	Ex. faríngeos y nasales: PM pulmón; esputo	CC: LIN	Sincitios	ICE	–	FC, IH, ELISA	IF, ELISA
Virus de la parotiditis	Saliva, LCR orina; PM (cerebro)	CC: PR (RM, REH) HE: AM, VIT	Sincitios ±	ICE	HA y HD (cobayo, pollo) humano)	FC, IH, IF, NT, ELISA	IF
Virus del sarampión	Ex. faríngeo, sangre: PM (cerebro)	CC: PR (HU, RM)	Sincitios, vacuolización	ICE INE	HA y HD (mono)	IH, FC, NT, FI, ELISA	
Virus de la rubeola	Ex. faríngeo, orina, líquido amniótico; PM (órganos)	CC: LIN (RK13, Vero)	Lenta en focos	–	HA (pollo, paloma)	IH, CF, NT, ELISA, IF (IgM)	
Adenovirus	Ex. faríngeo y conjuntival, heces	CC: (EPHU)	Células redondeadas, agrup. racimo	INB	HA (mono, rata, humano)	FC, IH (NT)	IF
Herpesvirus (tipos 1 y 2)	Líquido vesicular; ex. faríngeo, cuello del útero, LCR, cerebro	HE: MCE CC: PR, DIP, LIN	*Pocks*, células redondeadas, sincitios	INE	–	FC, HP, ELISA, IF	ME, MEI, IF
Virus de la varicela-zoster	Líquido vesicular; PM (pulmón)	CC: DIP HU	Células redondeadas, sincitios	INE	–	FC, ELISA, IF, FAMA	ME, MEI
Citomegalovirus	Orina, ex. faríngeo, leucocitos; PM (riñón, pulmón)	CC: DIP HU	Focos de 5-8 células fusiformes y ensanchadas	INE + ICE o anfólicas	–	FC, IF, ELISA	Ex. citopatológico IF (cult. de 24 h. orina)
Virus de Epstein--Barr	–	–	–	–	–	IF (anti-VCA, EBNA EA)	Reacción PBD
Poliovirus	Heces, ex. faríngeo; PM (médula espinal)	CC: PR, LIN, DIP	Rápida y completa	–		NT, CF, ELISA, IF	ELISA, IF
Virus Coxsackie A	Heces, ex. faríngeo, LCR, vesículas	AE: ratón lactante CC: PR, DIP HU	Lenta e incompleta	–	HA (algunos tipos de mono)	NT, CF, IH, ELISA, IF	ELISA, IF
Virus Coxsackie B	Heces, ex. faríngeo, LCR; PM (corazón)	CC: PR, DIP HU AE: ratón lactante	Lenta e incompleta	–	HA (algunos tipos de mono)	NT, CF, IH, ELISA, IF	ELISA, IF
Virus Echo	Heces, faringe, LCR	CC: PR, DIP HU	Lenta e incompleta	–	HA (algunos tipos de mono)	NT, CF, IH, ELISA, IF	ELISA, IF
Virus de la rabia	PM (cerebro)	AE: ratón intracerebral	–	ICE (Negri)	–	IF, ELISA	IF
Virus de hepatitis A	–	–	–	–	–	HP, ELISA, RIA	ELISA, RIA, MEI
Virus de hepatitis B	–	–	–	–	–	HA, RIA, ELISA	RIA, ELISA,

PM: *post mortem*.
HE: huevo embrionado.
CC: cultivos celulares.
AE: animales de experimentación.
AM: vía amniótica.
AL: vía alantoidea.
VIT: saco vitelino.
MCA: m. corioalantoidea.
PR: células primarias.
DIP: cepas diploides.
LIN: líneas celulares.
RM: células de riñón de mono.
HU: de origen humano.
REH: riñón embrionario humano.
EP: células epiteliales.
ICB: inclusiones citoplásmicas basófilas.
ICE: inclusiones citoplásmicas eosinófilas.
INB: inclusiones nucleares basófilas.
INE: inclusiones nucleares eosinófilas.
FAMA: inmunofluorescencia de antígeno membrana.
HA: hemaglutinación.
HD: hemadsorción.
FC: fijación de complemento.
NT: neutralización.
IH: inhibición de la hemaglutinación.
ID: inmunodifusión.
IF: inmunofluorescencia.
ME: microscopia electrónica.
MEI: microscopia electrónica inmune.
HP: hemoglutinación pasiva.
PBD: Paul - Bunnell - Davidsohn.
ELISA: enzimoinmunoanálisis.
RIA: radioinmunoanálisis.

minución significativa (× 4) en la segunda muestra pueden ser indicativas de una infección reciente. Para interpretar debidamente los resultados de las reacciones serológicas, deben tenerse en cuenta las fechas de comienzo de la enfermedad y de obtención del suero, así como el intervalo entre los dos sueros.

También se puede efectuar el diagnóstico de presunción de infección reciente con una sola muestra de suero determinando los anticuerpos ligados a las IgM, que son los que aparecen primero en la infección y desaparecen rápidamente. Se utiliza especialmente en el diagnóstico de las infecciones congénitas (rubéola, citomegalovirus), pues, como las IgM maternas no atraviesan la placenta, su hallazgo en la sangre del cordón es significativa de infección reciente antenatal.

Las reacciones serológicas más empleadas en virología clínica son las reacciones de neutralización (NT), de fijación del complemento (FC) y de inhibición de la hemaglutinación (IH). Existen, además, otras técnicas, como las de inmunodifusión (ID), contrainmunoelectroforesis (CIE), inmunofluorescencia (IF), radioinmunoanálisis (RIA) y enzimoinmunoanálisis (ELISA).

Reacción de neutralización

Se basa en la demostración de anticuerpos en el suero por su capacidad neutralizante sobre una suspensión de virus previamente valorada. La neutralización del virus se demuestra en general por inoculación de la mezcla en cultivos celulares (enterovirus, adenovirus), aunque también en ocasiones en huevos embrionados (virus de la gripe y parotiditis) o en animales susceptibles (ratón lactante y virus Coxsackie A). Aunque el principio en que se basa es sencillo, la práctica de la reacción es compleja, pues debe procederse a una rigurosa valoración de todos los elementos que intervienen en la reacción, en especial de la suspensión del virus. La dosis de prueba (TCID50) y los resultados de la reacción deben valorarse por métodos estadísticos (métodos de Reed y Muench, o de Karber).

Una característica general de los anticuerpos neutralizantes es que persisten mucho tiempo después de la infección (años), lo que dificulta el diagnóstico, pues una reacción positiva puede ser la expresión de una infección anterior; es preciso demostrar un aumento significativo del título de anticuerpos en las dos muestras de suero para llegar al diagnóstico de infección reciente. Como dicha reacción en general es tipoespecífica, permite determinar el tipo antigénico del virus causal y se emplea sobre todo para la identificación de los virus aislados de un enfermo. Aunque su empleo como método de serodiagnóstico es limitado, es una reacción inapreciable para la práctica de encuestas epidemiológicas que permitan determinar la difusión de un virus en la población por la proporción de infecciones anteriores, así como el grado de inmunización de dicha población.

Reacción de fijación del complemento

Es análoga a la utilizada en el diagnóstico de las infecciones bacterianas y es una de las técnicas más empleadas en virología por su sencillez y la facilidad de obtención de buenos antígenos.

Los anticuerpos fijadores del complemento se desarrollan más lentamente que los neutralizantes e IH, y como la reacción es menos sensible, los títulos son más bajos y los anticuerpos desaparecen rápidamente, no detectándose a los 3-5 meses, lo que permite muchas veces demostrar seroconversiones y aumentos significativos con sueros obtenidos en intervalos más cortos, y, además, la demostración de títulos elevados (1/64) en un solo suero constituye una fuerte presunción diagnóstica de infección reciente.

Existen virus que presentan un antígeno fijador del complemento común, como ocurre con el virus gripal A y adenovirus, lo que permite efectuar el diagnóstico de grupo o especie, y, además, como se pueden practicar reacciones en batería frente a todos los agentes posibles causantes de un síndrome determinado, se facilita extraordinariamente el diagnóstico. En el diagnóstico de las virosis respiratorias se acostumbra practicar una prueba en batería con los antígenos de 8-10 virus, además de *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia psittaci* y *Coxiella burnetii.*

Existen virus que presentan dos tipos de antígenos que pueden demostrarse por fijación del complemento, uno que se encuentra asociado con la partícula del virus o antígeno viral (V) y otro de mucho menor tamaño que puede pasar a la solución, denominado antígeno soluble (S). En general, los anticuerpos frente al antígeno S aparecen precozmente y desaparecen a los 2-3 meses de la enfermedad, mientras que los anticuerpos V se manifiestan más tardíamente y se mantienen durante mucho tiempo. Así, en la parotiditis, un título elevado de anticuerpos S y uno bajo de anticuerpos V indican enfermedad en período de comienzo, un título elevado de anticuerpos S y V señala enfermedad actual de varios días de duración y un título elevado de anticuerpos V es indicativo de enfermedad o infección anterior. La meningoencefalitis producida por virus de la parotiditis ha podido diagnosticarse en los primeros días de la enfermedad por esta elevación precoz de anticuerpos solubles (S).

La reacción de FC se utiliza en el diagnóstico de las infecciones producidas por los virus de la gripe A y B, virus parainfluenza 1, 2, 3, virus RS, adenovirus, virus de la parotiditis, virus del sarampión, poliovirus y otros enterovirus, virus de la coriomeningitis linfocitaria, herpes, varicela, citomegalovirus, etc.

Reacción de inhibición de la hemaglutinación

Algunos virus presentan la propiedad de aglutinar los hematíes de diferentes especies de animales, propiedad que puede ser inhibida específicamente por los anticuerpos existentes en el suero de los enfermos (fig. 54-4).

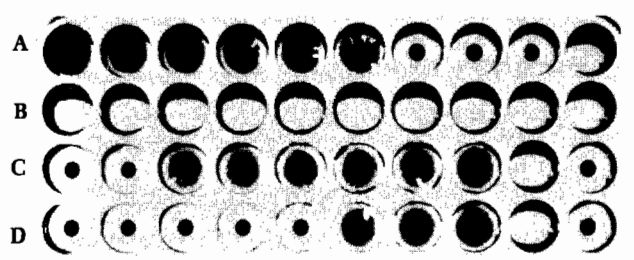


Fig. 54-4. A a D) Reacción de inhibición de la hemaglutinación. A) Titulación del virus. C y D) Inhibición de la hemaglutinación.

En realidad es una modalidad de la reacción de neutralización, aunque de técnica más sencilla. Sin embargo, la existencia en el suero del enfermo de inhibidores no específicos de la hemaglutinación y de hemaglutininas frente a los hematíes utilizados (hemaglutininas antiespecies o heterólogas) obliga a tratar los sueros para evitar estas causas de error.

Por lo general, los anticuerpos son tipoespecíficos, aparecen antes que los FC y persisten durante mucho tiempo, lo que explica su importancia en los estudios epidemiológicos. La reacción de IH con sueros pares es el método serológico de elección para el diagnóstico de la rubéola y del sarampión; también se emplea en el diagnóstico de las infecciones por el virus de la gripe, parainfluenza y parotiditis, y menos veces en el de las infecciones por adenovirus, reovirus y algunos enterovirus.

Métodos de diagnóstico rápido

Recientemente se han desarrollado métodos de diagnóstico más rápido, que permiten obtener el resultado en el mismo día de obtención de la muestra o en el curso de la enfermedad. En su mayoría son métodos de examen microscópico directo, asociados con técnicas inmunológicas que permiten llegar al diagnóstico por la demostración del virión o sus antígenos en las células parasitadas y en ocasiones mediante la detección de anticuerpos, en especial de las IgM específicas. Dejando aparte los métodos de observación con el microscopio ordinario, para la demostración de los corpúsculos elementales (poxvirus) en las lesiones cutáneas o la presencia de cuerpos de inclusión en las células infectadas (Negri, Guarnieri), las técnicas más importantes son las de microscopia electrónica, de inmunofluorescencia y de inmunoanálisis.

Microscopia electrónica

Consiste en llegar al diagnóstico por observación directa de la morfología del virión mediante examen de la muestra al microscopio electrónico por el método de tinción negativa. Es una técnica poco sensible ya que precisa una concentración de virus en la muestra de 10^6 a 10^7. Se pueden utilizar tres tipos de muestras:

1. Líquido de vesículas cutáneas para el diagnóstico de las virosis exantemáticas producidas por herpesvirus (virus del herpes 1 y 2, virus de la varicela-herpes zoster) o poxvirus (virus de la viruela y vacuna), o lesiones verrugosas para la observación del virus de la verruga común, *molluscum contagiosum* o del virus Orf (dermatitis pustular de las ovejas).
2. Muestras de heces, que por observación directa, previa concentración y adición de suero inmune, o microscopia electrónica inmune (MEI), se emplean para la determinación de rotavirus, adenovirus y calicivirus, como más importantes (fig. 54-5).
3. Muestras de sangre, para detectar el virus o los antígenos superficiales del VHB por observación directa o MEI.
4. Muestras de orina para la observación de citomegalovirus en las infecciones congénitas.

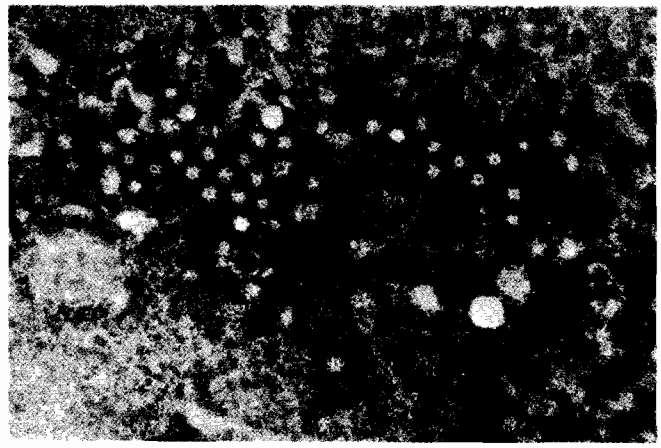


Fig. 54-5. Microscopia electrónica. Calicivirus en heces (tomado Prof. C. R. Madeley).

Inmunofluorescencia (IF)

Es una técnica conocida, que se empieza a utilizar en el diagnóstico rápido de las virosis, pero que exige un equipo costoso y sobre todo un personal especializado, que utilizando una técnica rigurosa y reactivos inmunológicos muy puros permitan evitar las causas de error y asegurar la especificidad de los resultados. Se practica por lo general en centros especializados. Se utiliza:

1. Como IF directa, para el diagnóstico de la rabia por la demostración de los cuerpos de inclusión de Negri en las células del asta de Ammon.
2. Como IF indirecta, para el diagnóstico de las virosis respiratorias (*M. influenzae* tipos A y B, virus parainfluenza tipos 1, 2, 3, 4, adenovirus, virus RS) mediante la demostración del virus en el citoplasma o núcleo de las células del epitelio nasofaríngeo (fig. 54-6) obtenidas por lavado o succión a través de un catéter; también para el diagnóstico de la queratitis y de la encefalitis herpética y aun de la panencefalitis esclerosante subaguda por la demostración de nu-

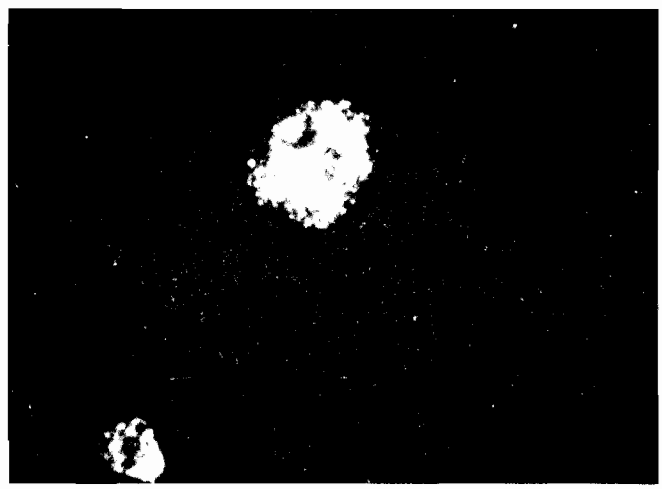


Fig. 54-6. Inmunofluorescencia indirecta. Virus RS en la secreción nasofaríngea (× 190). (Tomado de Gardner, P. S., y Quillin, M.: En Rapid Virus Diagnosis-Application of Immunofluorescence. Butterworth, London, 1974.)

cleocápsides del virus del sarampión en las células nerviosas obtenidas por biopsia, y para la detección de viriones en la sangre asociados a leucocitos.

Asimismo la IF puede utilizarse para la demostración precoz del desarrollo del virus en los cultivos celulares (24-48 horas) y la determinación de anticuerpos en el suero del enfermo, en especial de las IgM específicas. Se ha introducido una nueva técnica de inmunofluorescencia indirecta más rápida y objetiva (FIAX), que utiliza antígeno soluble fijado en un soporte sólido y efectúa la lectura por medio de un fluorímetro, estando relacionada la intensidad de la fluorescencia con el título de anticuerpos.

Inmunoanálisis

Los métodos de inmunoanálisis con marcadores radiactivos (RIA) o enzimáticos (EIA) y en especial las técnicas en fase sólida (SPRIA y ELISA) se están utilizando en el diagnóstico de las virosis, para la detección tanto de antígenos como de anticuerpos (IgG e IgM).

La técnica ELISA puede utilizarse según tres modalidades: métodos competitivo, directo e indirecto. Los dos últimos se emplean habitualmente para la detección de antígenos, consisten en fijar una capa de anticuerpo específico sobre un soporte sólido (placa o esferas de plástico), que actúa como anticuerpo de «captación» del antígeno problema, y en una segunda fase demostrar que la fijación se ha producido mediante la adición de un anticuerpo específico marcado con enzimas o un anticuerpo específico conocido sin marcar, que a su vez es detectado por un suero antiglobulina marcado. Se produce, por tanto, una reacción en «sandwich», anticuerpo de captación-antígeno problema-anticuerpo específico marcado o anticuerpo de captación-antígeno problema-anticuerpo específico conocido-suero antiglobulina marcado con una enzima. Por último, la reacción se visualiza añadiendo el sustrato adecuado, que en presencia de la enzima fijada produce una reacción coloreada.

También se emplea la reacción ELISA para la demostración de anticuerpos específicos en el suero del enfermo (fig. 22-19), ya de las IgG por reacción indirecta o en especial de las IgM (reacción en «sandwich»), que son indicativos de infección reciente. En este caso se emplea como anticuerpo de captación un suero anti-IgM (cadena pesada μ) que fija las IgM específicas del suero problema. A continuación se añade antígeno específico conocido y el anticuerpo específico marcado con enzima, que se detecta, al igual que en el caso anterior, por método colorimétrico frente al sustrato correspondiente.

La técnica ELISA se emplea para la demostración de antígenos en las infecciones por rotavirus y virus de la hepatitis B (AgHBs) y de anticuerpos (IgG o IgM) en el diagnóstico de la rubéola, sarampión, parotiditis, herpesvirus, varicela-zoster y citomegalia.

La RIA en fase sólida, o SPRIA, es un método muy sensible que se emplea para el diagnóstico del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (AgHBs) en el suero del enfermo. Es semejante al método ELISA, con la diferencia de que la fijación del antígeno se demuestra mediante un suero anti-HBs marcado con isótopos radiactivos (^{125}I), que se detecta con un contador de radiaciones γ. Para la demostración de anticuerpos también se emplea como anticuerpo de captación un suero anti-IgM (cadena μ).

Hibridación del ácido nucleico

Teniendo en cuenta que el componente más específico del virus es el genoma, en la actualidad se están desarrollando los métodos de hibridación del ácido nucleico como las técnicas más sensibles y específicas que se han simplificado para el diagnóstico rápido de las virosis.

La prueba de hibridación en «sandwich» utiliza como reactivo dos fragmentos adyacentes de ADN del virus de referencia, uno de los cuales se fija a un filtro de nitrocelulosa y el otro, o fragmento «sonda», se marca con isótopos radiactivos y se utiliza para la detección del ADN problema. La muestra del enfermo se trata para obtener el ADN del virus problema, que se desnaturaliza por el calor y se mezcla con los reactivos, de manera que, cuando el ADN problema es homólogo, se asocia con los dos reactivos, llevando el fragmento «sonda» al filtro, donde se produce la combinación de los dos fragmentos y la formación de un complejo en «sandwich», que se detecta con un contador de radiaciones. Es de técnica fácil, pues los reactivos se preparan en laboratorios especializados, las muestras precisan pocas manipulaciones e incluso se pueden emplear muestras sin tratar. Presentan el inconveniente de la vida limitada del reactivo marcado, buscándose el empleo de marcadores no radiactivos más estables como el complejo biotina-avidina.

Otras técnicas

En casos determinados pueden emplearse otras técnicas, como la hemaglutinación inversa pasiva en fase líquida (RPHA) o sólida (SPACE), la hemólisis radial simple (SRH), la inmunodifusión (ID) y la contrainmunoelectroforesis (CIE) (fig. 54-7). Los métodos utilizados en el diagnóstico de las virosis más frecuentes se exponen en la tabla 54-4.

Para establecer el diagnóstico de una virosis debe existir una estrecha colaboración entre el clínico y el virólogo. No se puede remitir una petición que diga «virología de tal o cual producto» o después de haber agotado los demás métodos de diagnóstico, sino que el clínico debe ponerse en contacto con el virólogo durante los primeros días de la enfermedad, para que, de la consideración de los datos clínicos y fecha de comienzo real del proceso, se pueda decidir la selección del producto, el momento más oportuno para la

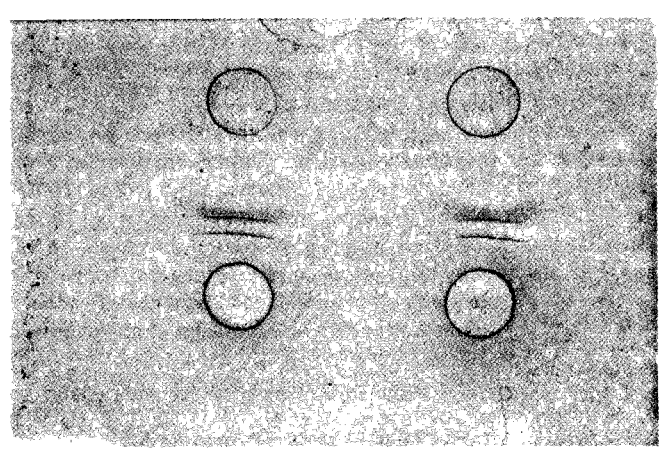


Fig. 54-7. Contrainmunoelectroforesis.

toma de muestras, las condiciones de transporte y las pruebas más idóneas para el diagnóstico. La consideración conjunta de los datos clínicos y epidemiológicos con los resultados de las pruebas de laboratorio permite en la mayoría de los casos llegar al diagnóstico de certeza. Es muy importante que el clínico tenga conocimientos adecuados de virología y el virólogo, de clínica de las virosis.

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

La profilaxis de las virosis se basa en la neutralización o destrucción del virus antes de su fijación en las células sensibles, lo que puede efectuarse por métodos de bioprofilaxis mediante la administración de vacunas y sueros o de quimioprofilaxis.

El tratamiento se basa en la administración de productos que inhiban cualquiera de las etapas del proceso de replicación, en especial los mecanismos de biosíntesis, maduración y liberación del virus en la célula huésped, mediante la administración de interferón o de sustancias químicas.

Vacunas

Las vacunas se preparan con virus que se han hecho inocuos y conservan su poder inmunizante. En la práctica se utilizan vacunas con virus activos que se preparan seleccionando mutantes de virulencia atenuada por métodos empíricos o manipulación genética y vacunas con virus inactivados, antígenos purificados (cap. 25) (tabla 54-5) u obtenidos por ingeniería genética.

Sueros

La administración de sueros inmunes y de inmunoglobulinas, cuando se efectúa antes del contagio o en los primeros días del período de incubación, puede evitar o modificar la enfermedad, sobre todo en las virosis con una fase de viremia. Se emplea en la protección a corto plazo de las personas de alto riesgo que no hubieran sido inmunizadas, especialmente frente al sarampión, hepatitis A y B, y rabia, y de las que presentan inmunodeficiencias naturales o adquiridas (sarampión, varicela) (cap. 25). También se ha utilizado para la protección frente a la rubéola, parotiditis y poliomielitis, pero su importancia ha disminuido con la aparición de las vacunas antivíricas atenuadas.

Quimioprofilaxis y quimioterapia

Los avances efectuados en el conocimiento del mecanismo de replicación de los virus han revelado que existen una serie de etapas y de procesos bioquímicos específicos del virus, que se pueden diferenciar netamente de las funciones celulares. Estos hallazgos han permitido establecer programas de selección para el aislamiento de numerosas sustancias químicas de acción antivírica *in vitro*, así como llegar al conocimiento de su mecanismo de acción. Los quimioterápicos que se utilizan en el tratamiento de las virosis, en su mayoría, son análogos estructurales de las bases purínicas y pirimidínicas que constituyen los ácidos nucleicos, por engarce a las estructuras cíclicas de halógenos (I, Fl o Br) o por su unión con el azúcar arabinosa, en lugar de desoxirribosa. Inhiben la acción de la ARN-polimerasa, la síntesis del ADN y, en consecuencia el proceso de replicación de los virus ADN. Sin embargo, la mayoría de estos compuestos no han podido emplearse en clínica a consecuencia de su toxicidad y en algunos casos porque inducen rápidamente la aparición de mutantes resistentes (benzimidazol, guanidinas). Sólo un número muy limitado han sido autorizados para su empleo en el hombre (tabla 54-6).

Amantadina

La amantadina (clorhidrato de l-adamantanamina) es una amina que bloquea la infección de las células por *M. in-*

Tabla 54-5. Principales vacunas víricas

Vacuna	Virus	Cultivo	Inactivación	Administración	Presentación	Período de validez
Vacunas atenuadas	Mutantes:					
Poliomielitis	Tipos 1, 2 y 3 Sabin	WI-38	–	Oral	Líquida	10 meses (2-10 °C)
Sarampión	Schwarz	Fibroblastos de pollo	–	Subcutánea	Liofilizada	12 meses (2-10 °C)
Rubéola	RA 27/3	WI-38	–	Subcutánea	Liofilizada	24 meses (2-10 °C)
Parotiditis	Jeryl-Linn	Fibroblastos de pollo	–	Subcutánea	Liofilizada	12 meses (2-10 °C)
Fiebre amarilla	17D	Huevo embrionado	–	Subcutánea	Liofilizada	12 meses (2-8 °C)
Adenovirus	Tipos 4 y 7 (no atenuada)	WI-38	–			
Vacunas inactivadas						
Poliomielitis	Tipos 1, 2 y 3	WI-38	Formol, calor	Subcutánea	Líquida	18 meses (2-10 °C)
Gripe	Tipos A (N1N1, H3N2) y B	Huevo embrionado	Formol, desoxicolato	Subcutánea	Líquida	12 meses (2-10 °C)
Rabia	Pitman-Moore	WI-38	β-Propiolactona	Subcutánea	Líquida	24 meses (2-10 °C)
Vacunas con antígenos purificados						
Gripe	Vacuna fraccionada	Huevo embrionado	Formol, propiolactona	Subcutánea	Líquida	
Hepatitis B	AgHBs	Plasma de portadores	Urea, pepsina, formol	Intramuscular	Líquida	(2-8 °C, no congelada)

Tabla 54-6. Principales compuestos químicos para el tratamiento y profilaxis de las infecciones víricas

Sitio de acción	Compuesto químico	Virus sobre los que actúa
Adsorción	Compuestos polianiónicos	Herpesvirus
Penetración y liberación del ácido nucleico	Amantadina	*M. influenzae* tipos A y C
	Rimantadina	Virus de la rubéola
Replicación ARN	Benzimidazol, guanidinas	Picornavirus
	Ribavirín	
Replicación ADN	Yododesoxiuridinas (IDU)	Herpesvirus
	Trifluorotimidina	
	Bromovinil-desoxiuridina (BVBU)	Retrovirus
	Aciclovir (ACV)	
	Vidarabina (Ara A)	
Transcripción (ARN → ADN)	Azidotimidina	Retrovirus
Traducción	Tiosemicarbazonas	Poxvirus
Maduración (glicosilación)	Desoxiglucosa	Virus con membrana

fluenzae tipo A, por su acción inhibidora en las etapas de penetración y liberación del ácido nucleico. Es un compuesto poco tóxico que se administra por vía oral y sólo en algunos casos produce alteraciones transitorias del SNC, sobre todo cuando se emplea a dosis elevadas.

Los ensayos controlados efectuados en diversos países en gran número de voluntarios han demostrado que como profiláctico protege el 70 % de casos y administrada en las fases iniciales de la enfermedad reduce la gravedad de los síntomas y su duración en el 50 %. Se conocen derivados, como la rimantadina, de propiedades análogas. El ribavirín, que inhibe la síntesis del ARN vírico por bloqueo de la biosíntesis de la guanina, se ha demostrado más activo *in vitro*; además, puede administrarse por vía oral y no produce resistencias, pero los resultados obtenidos en los ensayos clínicos efectuados no han sido concluyentes. Entre los derivados del benzimidazol, se ha obtenido un nuevo antivírico, la enviroxima, de acción *in vitro* sobre los picornavirus y en especial sobre los rinovirus, pero *in vitro* los resultados han sido aleatorios hasta el presente.

Desoxiuridinas

Las desoxiuridinas son análogos estructurales de la timidina (pirimidina), que inhiben la acción de la ADN-polimerasa en las células infectadas y, por tanto, la replicación del ácido nucleico en los virus ADN. Esta acción es debida a que la ADN-polimerasa sólo se activa después de fosforilación por una enzima de origen viral (timidinquinasa). En estos casos se produce un ADN vírico anómalo y no infeccioso por sustitución de la timidina por las desoxiuridinas.

Como las yododesoxiuridinas (IDU) son compuestos tóxicos que pueden producir aplasias medulares, se emplean fundamentalmente por vía tópica. Están indicadas en el tratamiento de la queratitis herpética y vacunal, aunque no evitan las recurrencias; también presentan cierta acción sobre los herpes cutaneomucosos (herpes labial y genital, herpes zoster), pero no en el herpes generalizado del lactante. Administradas por vía parenteral se han empleado en el tratamiento de la encefalitis herpética con poco éxito. Como las IDU sólo presentan un pequeño margen de seguridad, se ha intentado obtener otros compuestos de mayor toxicidad selectiva. Recientemente se ha autorizado el empleo tópico del acyclovir o acicloguanosina (ACV) por su menor toxicidad en la queratitis herpética y en el herpes genital primario, y también por vía intravenosa en las infecciones herpéticas graves en enfermos inmunocomprometidos. Se encuentran en período de ensayo *in vitro* la bromovinildesoxiuridina (BVDU) varias veces más activa frente al herpesvirus tipo 3 (virus de la varicela-herpes zoster), el ácido fosfonofórmico (PFA), que, además de su acción sobre los herpesvirus, parece que presenta cierta acción inhibidora sobre la polimerasa del virus de la hepatitis B y algunas transcriptasas reversas de los retrovirus, y la trifluorotimidina, que por vía tópica es muy activa y poco tóxica en las infecciones oculares por virus del herpes y que *in vitro* presenta acción sobre los citomegalovirus.

La azidotimidina (retrovir) inhibe la síntesis del ADN a partir del ARN vírico mediante la transcriptasa inversa en los retrovirus. Su administración mejora la supervivencia de los enfermos de SIDA.

Ara A y Ara C

Los arabinósidos de la adenina (Ara A o vidarabina) y de la citosina (Ara C o citorabina), al igual que los anteriores, se comportan como análogos estructurales de los nucleósidos, inhibiendo en las células infectadas la ADN-polimerasa vírica y, por tanto, bloqueando la síntesis del ADN vírico. Presentan una acción semejante, pero son menos tóxicos. El más activo y menos tóxico es el Ara A que se considera de interés en las infecciones por herpesvirus y poxvirus en el hombre. Se emplea en la queratitis herpética, en casos de toxicidad o resistencia a los anteriores, no interfiriendo en la cicatrización normal. Se ha utilizado por vía parenteral en el control de la varicela y zoster en pacientes inmunodeprimidos e incluso en casos de encefalitis herpética, en que se ha observado que disminuye la mortalidad si se administra precozmente. El tratamiento debe efectuarse por perfusión intravenosa y requiere hospitalización. No se ha demostrado la aparición de virus resistentes.

Tiosemicarbazonas

Comprende un grupo de compuestos antivíricos de acción sobre los poxvirus (viruela y vacuna), que intervienen

en la etapa de traducción, inhibiendo la formación de polisomas y, por tanto, la síntesis de proteínas específicas del virus. En el hombre han demostrado su eficacia en la prevención de la viruela en los contactos y en el tratamiento de las complicaciones vacunales (vacuna generalizada, vacuna gangrenosa). La erradicación de la viruela ha hecho que, en la actualidad, estos preparados sólo tengan un interés histórico.

BIBLIOGRAFIA

Baltimore, D.: Expression of animal virus genomes. Bacteriol. Rev., 35, 235-241, 1971.

Bellanti, J. A.: Mechanisms of immunity to virus diseases. En Bellanti, J. A. (dir.): Immunology. W. B.: Saunders, Philadelphia, 1978.

Caspar, D. L. D.: Design particles in virus particle construction. En Horsfall, F. L., y Tamm, I. (dirs.): Viral and Rickettsial Infections of Man, 4.ª ed. J. B. Lippincott, Philadelphia, 1975.

Davis, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen, H. N., y Ginzberg, H. S.: Microbiology, 3.ª ed. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Diener, T. O.: Viroids, Ann. Rev. Microbiol., 28, 23-38, 1977.

Evans, A. S. (dir.): Viral infections of humans. Epidemiology and Control. Plenum Press, New York, 1976.

Fenner, F., y White, D. O.: Medical Virology, 2.ª ed. Academic Press, New York, 1976.

Fenner, F.; McAuslan, B. R.; Mims, C. A.; Sambrook, J. F., y White, D. O.: The Biology of animal Viruses, 2.ª ed. Academic Press, New York, 1974.

Galasso, G. J.; Merigan, T. C., y Buchanan, R. A. (dirs.): Antiviral agents and viral diseases of man. Raven Press, New York, 1979.

Gajdusek, D. C.: Unconventional viruses and the origin and disappearance of Kuru. Science, 197, 943-960, 1977.

Ho, M., y Armstrong, J. A.: Interferon. Ann. Rev. Microbiol., 29, 131-146, 1975.

Lennette, H., y Schmidt, J. J. (dirs.): Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections, 5.ª ed. An. Pub. H. Assoc., Washington, 1979.

Luria, S. E.; Darnell, J. E.; Baltimore, D., y Campbell A.: General Virology. Wiley, New York, 1978.

Matthews, R. E. F.: Classification and nomenclature of viruses. Third Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Intervirology, 12, 129, 1979.

Matthews, R. E. F.: Classification and nomenclatura of viruses. Fourth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Intervirology, 17, 1-200, 1982.

Melnick, J. L.: Viral Vaccines. Prog. Med. Virol., 23, 158, 1977.

Mims, C. A.: The pathogenesis of infectious diseases. Academic Press, London, 1976.

Palese, P., y Roizman, B. (dirs.): Genetic variation of viruses. Ann. N. Y. Acad. Sci., 354, 1-507, 1980.

Prusiner, S. B.: Novel proteinaceous particle cause Scrapie. Science, 136-144, 1982.

Capítulo 55

Poxvirus

Gonzalo Piédrola-Angulo

Los poxvirus constituyen un grupo de virus ADN, de gran tamaño (200-250 × 300-350 nm), de simetría compleja, con envoltura y ciclo de multiplicación intracitoplásmico, que se caracterizan clínicamente por dar lesiones papulovesiculosas en la piel. *Pox* es el plural de la palabra inglesa *pock*, que significa pústula, úlcera.

Poxviridae es una familia constituida por más de 30 especies, agrupadas en dos subfamilias, los poxvirus de los vertebrados (*Chordopoxvirinae*) y de los artrópodos (*Entomopoxvirinae*). En los primeros se distinguen 6 géneros, según el huésped natural, la estructura antigénica, la sensibilidad al éter, la aglutinación de hematíes de pollo y el análisis del ADN por endonucleasas de restricción:

Orthopoxvirus. Son resistentes al éter y aglutinan los hematíes de pollo. Este género comprende los virus de la viruela (*smallpox*), vacuna (*vaccinia*), alastrim, viruela de la vaca (*cowpox*), del mono (*monkeypox*), del conejo, del camello, del búfalo, etc., y la ectromelia de los ratones.

Parapoxvirus. Son etersensibles y no hemaglutinantes. Su tamaño es menor y la membrana externa es más gruesa. Sus huéspedes naturales son los ungulados y, excepcionalmente, el hombre. Entre ellos se encuentran el virus *Orf*, el virus de la dermatitis ulcerativa de las ovejas y los virus causantes de los nódulos de los lecheros y la estomatitis papular, ambos de las vacas.

Avipoxvirus. Resistentes al éter; sus huéspedes naturales son las aves. Comprenden la viruela aviar, la de los canarios, palomas, gorriones, pavos, codornices, etc.

Capripoxvirus. Sensibles al éter y productores de pústulas en ovejas y cabras.

Leporipoxvirus. Son sensibles al éter y productores de cuadros en roedores, de tipo fibromas (liebres, conejos, ardillas) o mixomas en los conejos. Se ha comprobado su transmisión por artrópodos.

Suipoxvirus. Causantes de cuadros en los cerdos.

Además, existen especies aún no clasificadas, como los agentes del *whitepox*, *tanapox*, virus del tumor del mono *Yaba* y el virus del *molluscum contagiosum*. Los entomopoxvirus se encuentran limitados a los artrópodos y no se multiplican en los vertebrados.

Los principales poxvirus implicados, hasta ahora, en cuadros patógenos humanos se recogen en la tabla 55-1.

CARACTERES GENERALES DE LOS POXVIRUS

Las propiedades de los *orthopoxvirus*, donde se encuentran los principales virus patógenos humanos, son las siguientes.

Morfología

Al microscopio óptico, las partículas víricas pueden observarse como pequeñas esferas de 0,2-0,3 μm de diámetro, que se tiñen por los colorantes a base de anilinas, como los

Tabla 55-1. Principales poxvirus patógenos para el hombre

Géneros	Especies	Principales datos clínicos
Orthopoxvirus	*Smallpox*	Viruela. Enfermedad erradicada actualmente
	Vaccinia	En desuso. Puede causar complicaciones graves
	Monkeypox	Cuadro similar a la viruela, en zonas africanas
	Cowpox	Lesiones en las manos de los ordeñadores*
Parapoxvirus	*Orf*	Lesiones similares al *cowpox*, pero más benignas en los tres cuadros*
	Estomatitis pustular bovina	
	Nódulo de los lecheros	
Otros	*Molluscum contagiosum*	Nódulos múltiples en piel, de larga duración. Sólo en hombres
	Tanapox	Lesiones nodulares en la piel. Origen animal
	Virus tumoral del mono *Yaba*	

*Enfermedades relacionadas con el trabajo del sujeto.

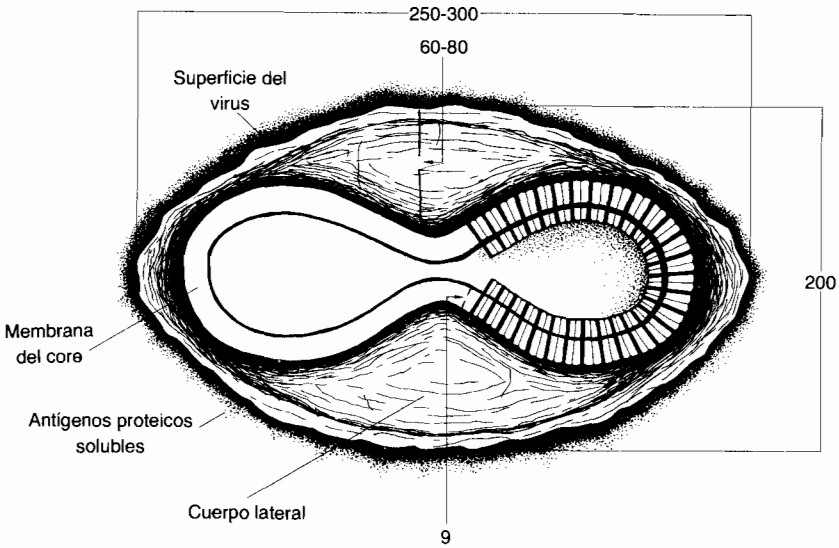


Fig. 55-1. Estructura esquemática de un *Poxvirus*. Las cifras representan nanómetros.

métodos de Paschen o Gutsteins, pero no por la técnica de Castañeda, a diferencia de clamidias y rickettsias. Al microscopio electrónico, la partícula vírica tiene un aspecto de paralelepípedo, semejante a un ladrillo de ángulos redondeados, con un tamaño de 170-250 × 300-325 nm y una zona menos densa en su interior.

Mediante coloración negativa y por cortes ultrafinos puede observarse la estructura de las partículas víricas (fig. 55-1), que consta de:

1. Un *nucleoide* central, que contiene el ADN vírico, rodeado por una doble membrana interna en empalizada de tubos vacíos, formada por subunidades proteicas de estructura regular, separadas por intervalos de 4-5 nm. Este nucleocápside tiene forma de diábolo, lente bicóncava o pesa de gimnasio, debido a la presencia en la parte cóncava de los corpúsculos laterales.
2. Un *viroplasma* filamentoso, en el que destacan dos formaciones ovoideas densas, de 60 a 80 nm de diámetro, los corpúsculos laterales, rodeados por una membrana proteica. Su naturaleza y misiones no son bien conocidas.
3. Una *envoltura*, constituida por una doble membrana externa de 20-25 nm, formada por subunidades tubulares lipoproteicas, que rodean las dos estructuras antes citadas. En su superficie se adsorben diversas proteínas de tipo soluble.

Constitución química

Los poxvirus contienen alrededor de un 90 % de proteínas, 5-7,5 % de ADN y 4-5 % de lípidos (fosfolípidos, grasas neutras y colesterol) pertenecientes a la envoltura. En ésta hay también, en muy escasa proporción, algunos glúcidos, unidos a los lípidos o a las proteínas.

El ADN es bicatenario de 80 nm de longitud, con un peso molecular de 80-240 × 10^6 (160 × 10^6 en los *orthopoxvirus*). El contenido de G + C es de 35-40 mol %, excepcionalmente bajo. Este ADN presenta capacidad para codificar varios centenares de proteínas. Entre las 30 proteínas estructurales, se han reconocido 8 constituyentes de alto peso molecular y 10 enzimas víricas específicas, como la ARN-polimerasa ADN-dependiente, una timidinquinasa, nucleótido-fosfohidrolasas y varias desoxirribonucleasas.

Propiedades físico-químicas

Los virus de la viruela y vacuna se inactivan por el calor (10 min a 60 °C, pero desecados resisten 100 °C durante 5 a 10 min) y las radiaciones ultravioletas y γ, y son destruidos por los ácidos, alcohol etílico y antisépticos (fenol, formol, permanganato, cloroformo, hipocloritos, etc.). Se inactivan en 1 hora a pH 3, y su pH óptimo es de 7 a 8 (7,1-7,3).

El virus vacunal se conserva bien en glicerina tamponada (pH 7) a 15 °C y sólo unos meses a 4 °C, y también en cisteína al 0,1 %. No se destruye por la desecación y puede ser congelado a –70 °C y conservado por liofilización. El hecho de que el virus de la viruela pueda resistir en los vestidos, desecado, muchos meses a 4 °C comportaba un peligro no sólo para los contactos directos, sino para los muy lejanos.

Existen diversos quimioterápicos capaces de proteger a los animales de experimentación frente a la infección vacunal, por lo que se han utilizado también con éxito en la prevención o quimioprofilaxis de la infección variólica. Son los siguientes: N-metil-isatina-β-tiosemicarbazona o metilsazona, 5-yodo-2-desoxiuridina, yodo-uracilo-desoxirribósido y otros. El virus también se inactiva por la globulina γ antivaccinia.

Constitución antigénica

Se distingue tres grupos principales de antígenos:

a) Un antígeno *profundo* o NP, nucleoproteico, correspondiente al nucleocápside del virión, con un peso molecular de 100.000-200.000 daltons; es un antígeno de grupo, común a numerosos poxvirus, que permite la protección de diversas enfermedades con el virus vacunal.

b) Un antígeno *superficial*, proteico o LS, correspondiente a las proteínas de la superficie del virión; posee un peso

molecular de 200.000 y es antígeno de subgrupo. En él existen dos constituyentes: L, termolábil a 60 °C y quimiotripsinarresistente, y otro S, termoestable a 100 °C y quimiotripsinasensible, responsable de anticuerpos fijadores de complemento, precipitantes y neutralizantes. Los antígenos LS, de la vacuna y viruela han demostrado una estructura similar, tanto frente a sueros de variolosos convalecientes como a suero antivaccinia de conejo.

c) Un antígeno *hemaglutinante*, HA, correspondiente a la hemaglutinina; es una lipoproteína compleja, asociada a partículas de 45 a 65 nm de diámetro y que da lugar a los correspondientes anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación. Es termoestable, distinto de los antígenos LS y NP, y no posee actividad neuraminidásica. Sólo aparece en los *orthopoxvirus*.

Además, el virus vacunal posee la propiedad de la hemadsorción: las células infectadas adsorben en su superficie hematíes de pollo, hecho que se inhibe en presencia de los anticuerpos específicos.

Cultivos

A excepción del virus del *molluscum contagiosum*, todos los poxvirus se cultivan en embrión de pollo y cultivos celulares. Las características del crecimiento y temperatura de incubación permiten el diagnóstico entre las diferentes especies y son citadas más adelante.

Multiplicación

Tras la adsorción sobre la membrana celular, donde no se han descrito receptores químicos específicos, tiene lugar la penetración en el citoplasma por pinocitosis, y las partículas víricas son rápidamente englobadas en el interior de las vacuolas citoplásmicas. Por medio de enzimas lisosómicas se destruye la envoltura vírica, y queda libre el nucleocápside, que pierde sus fosfolípidos y alrededor del 60 % de las proteínas (proteínas externas y corpúsculos laterales). Tras un período de tiempo, se pierde el cápside y queda libre el ADN vírico; esta descapsidación se debería a una descapsidasa (*decoating enzyme*), sintetizada por el ARN mensajero vírico y transcrita por una ARN-polimerasa estructural.

La síntesis proteica celular es rápidamente inhibida por las proteínas codificadas por el virus y 1 hora después aparecen en el citoplasma las proteínas víricas: ARN-polimerasa (indispensable para la replicación), otras enzimas y el ARN mensajero precoz (que codifica la síntesis de proteínas precoces) y tardío (que codifica las proteínas estructurales). A las 2 horas de la infección y gracias a una ADN-polimerasa, comienza la replicación del ADN vírico, que tiene lugar en el citoplasma celular, en el que se va acumulando, junto a las proteínas estructurales. Esto da lugar a la formación de grandes cuerpos de inclusión o corpúsculos de Guarnieri, que con sus 0,2 μm son visibles al microscopio óptico.

De la quinta a la decimocuarta hora de la infección tiene lugar la maduración y encapsidación del ADN que lleva a la formación de partículas completas e infectantes, que se liberarían al exterior tras la desintegración celular.

VIRUELA

Generalidades

La viruela ha sido una de las principales enfermedades en la historia de la humanidad y de las ciencias médicas. Conocida desde la época de los Faraones (Ramsés V) hace más de 3.000 años, fue la primera enfermedad que pudo prevenirse con una vacuna y ha sido la primera en erradicarse totalmente de la Tierra, según declaración oficial de la OMS, en 1980. Por ello, hoy la viruela debe estudiarse más como un modelo de enfermedad en la que el éxito de la medicina preventiva ha sido total que como enfermedad que hay que diagnosticar.

El hecho de que algunos laboratorios conserven virus de la viruela y la posibilidad, aún no demostrada, de que poxvirus animales puedan dar lugar a cuadros epidémicos hace que se citen los principales datos clínicos y diagnósticos de esta enfermedad.

Patogenia

La puerta de entrada del virus variólico es el aparato respiratorio superior. Aquí se multiplica en los tejidos linfoides y pasa a la sangre. El virus se replica activamente en las células reticuloendoteliales y da lugar a una segunda y más intensa viremia, que va seguida de las lesiones epidérmicas características. En la fase preeruptiva, a los 6-10 días del contagio, el virus ocasiona lesiones mucosas en la boca y vías respiratorias altas, que liberan gran cantidad de nuevas partículas y hacen al sujeto muy contagioso. Posteriormente se presentan las lesiones en la piel por proliferación de las células de la capa espinosa, con inclusiones típicas intracitoplásmicas (cuerpos de Guarnieri), degeneración, rotura de las membranas celulares y aparición de las típicas vesículas. Estas se llenan de piocitos y restos celulares, convirtiéndose en pústulas, que posteriormente se desecan (costras). También aparecen lesiones similares en las mucosas y diversas vísceras.

La gravedad del cuadro depende de la virulencia de la cepa y, fundamentalmente, del estado inmunitario del huésped, relacionado con la edad y otros factores (embarazo).

Clínica

Tras un período de incubación de 6 a 12 días, pueden aparecer diversos cuadros clínicos:

1. Forma ordinaria o *variola major*. Cursa con fiebre, cefalea, dolores musculares, y a los 2-5 días aparece un rash maculopapular progresivo, de comienzo en cara y manos; la fiebre desaparece. Dos a tres días después, las pápulas se llenan de líquido (vesículas) y pasan a pústulas en 48 horas, lo que coincide con una subida brusca de la fiebre. A los 10-12 días, estas pústulas, de 8-10 mm se secan y dejan unas típicas cicatrices. Es muy característico que las lesiones predominen en cara y miembros (fig. 55-2) y el que todas ellas evolucionan a la vez, en los cuatro estadios antes citados (monomorfismo).

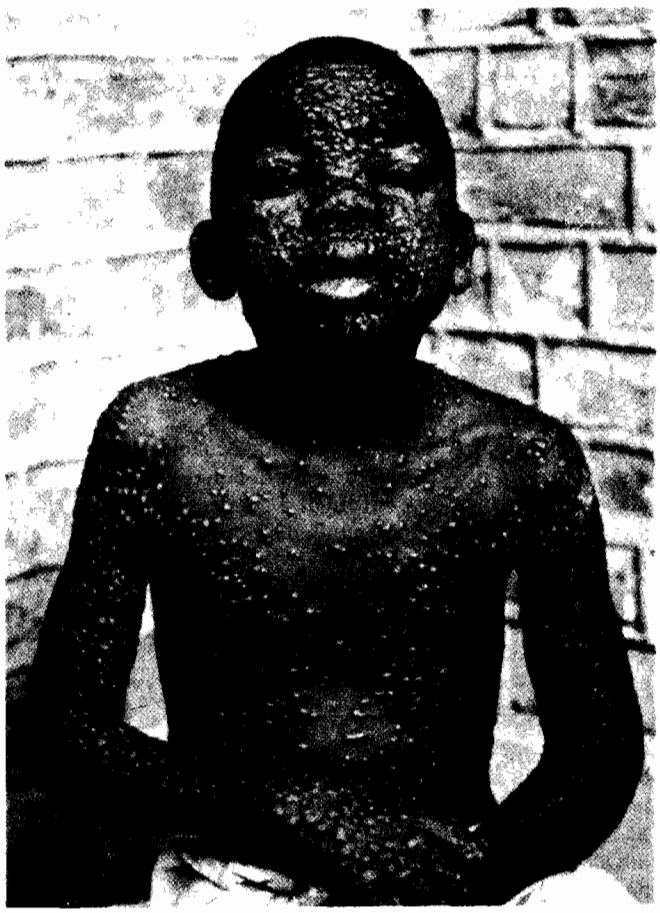


Fig. 55-2. Características lesiones de un enfermo de viruela. (Foto de la OMS.)

2. Formas graves. Comprenden la viruela hemorrágica y las formas de elementos planos. La primera, o viruela negra, cursa con hemorragias generalizadas en 2-3 % de todos los casos y es siempre mortal. Aparecía en sujetos sin defensas y en embarazadas. Las formas de elementos planos, muy raras, eran mortales entre el 60 y el 95 % de los casos.

3. Formas modificadas. Con erupción y vesículas de apariencia y distribución craneales. Son benignas y ocurren en sujetos parcialmente inmunizados.

4. Formas atenuadas o *variola minor*. Son formas muy benignas, que aparecían en algunos sujetos en el curso de las epidemias. El alastrim, o viruelas de leche, está causado por una cepa diferente de poxvirus; es de evolución benigna y aparecía solamente en ciertas regiones de Africa y América del Sur.

Diagnóstico

La viruela podría confundirse con otras enfermedades exantemáticas, principalmente con el sarampión y la varicela. Además de los datos clínicos citados, en los casos de duda, que siempre deben ser consultados con las autoridades sanitarias, se establecerá un diagnóstico virológico, que a través de la búsqueda directa del virus o de anticuerpos específicos intentará ser lo más precoz posible.

Directo

Toma. Se realizará siempre con un máximo de precauciones asépticas, debido a la gran contagiosidad de la enfermedad, y por personal vacunado. Para el aislamiento del virus, la toma se realiza a partir de las lesiones dérmicas, raspado de las maculopápulas, serosidad de las vesículas o pústulas (que hay que tomar con jeringa de tuberculina) o bien raspado de las costras. La sangre y las tomas faríngeas deben ser recogidas muy precozmente. Dada la alta contagiosidad de los productos que hay que remitir al laboratorio, es necesario tomar precauciones muy estrictas para su transporte: se utiliza doble embalaje, que comprende una caja metálica interna, que contiene el tubo de hemólisis o frasco con el producto patológico, y una caja externa de madera para protección de la anterior.

Examen directo. Permite un diagnóstico rápido de presunción (en 1 a 2 horas), por una de estas tres técnicas:

Microscopio óptico, mediante la visualización de los cuerpos de inclusión de Guarnieri (0,2 μm) en el citoplasma de las células afectadas, tras la tinción por el método de Giemsa, plata o anilinas.

Microscopio electrónico, que permite la búsqueda de los viriones en el líquido de las vesículas o pústulas, cuya morfología permite la diferenciación de las partículas icosaédricas de los herpesvirus (varicela).

Microscopio de luz ultravioleta, mediante el tratamiento de los frotis fijados por un suero marcado por isotiocianato de fluoresceína (inmunofluorescencia directa).

Los resultados del examen directo jamás justificarán no proseguir con las técnicas siguientes, ya que son similares en otros poxvirus.

Búsqueda de antígenos en los productos patológicos. A partir de las tomas cutáneas, se pueden demostrar antígenos víricos LS específicos frente a sueros conocidos. Se pueden utilizar técnicas de fijación de complemento (respuesta en 18 horas), inmunoelectroforesis, anticuerpos fluorescentes y, sobre todo, gelprecipitación, que es la de elección, ya que da resultados positivos entre las 3 y 6 horas.

Estas técnicas permiten un diagnóstico semirrápido, pero pueden fallar si la concentración del antígeno es débil en las lesiones.

Aislamiento e identificación. Puede realizarse por inoculación en animales sensibles (hoy abandonada) o cultivos en embrión de pollo o celulares. Este método es útil en cualquier fase de la enfermedad y requiere 2 a 3 días para dar un resultado.

Cultivo en embrión de pollo. El material diluido al 1/10 y al 1/100 con soluciones de antibióticos (penicilina y estreptomicina) se inocula en membrana corioalantoidea de varios embriones de 11 a 13 días; unos se incuban a 36 °C y otros, a 39,5 °C. Al tercer día se extraen las membranas y puede observarse:

a) Vacuna: Tanto a 36 °C como a 39,5 °C hay numerosas pústulas, anchas (4-5 mm), opacas y confluyentes, sobre una membrana necrosada, hemorrágica y con gran congestión vascular.

b) Viruela: Sólo a 36 °C da pequeñas pústulas (1-2 mm) blanquecinas, abombadas, no confluyentes, sobre una membrana no necrosada, no hemorrágica ni congestionada.

c) Varicela: Ausencia de lesiones.

d) Otros herpesvirus: Muy pequeñas y finas lesiones blanquecinas, sin alteración de la membrana (cap. 56).

e) *Monkeypox* y *cowpox:* Pequeñas lesiones vesiculares y hemorrágicas.

Cultivos celulares. Pueden utilizarse cultivos de primera fase (células de embrión de pollo, células renales humanas, células diploides humanas) o células de línea continua (HeLa, KB, HEp-2 y RB). En ellas puede observarse precozmente (72 horas) el efecto citopatogénico, caracterizado por placas irregulares con células redondeadas y presencia de otras vacuolizadas y gigantes multinucleadas. En ellas existen inclusiones acidófilas intracitoplásmicas.

Normalmente se siembran células renales de primer explante de mono y de conejo, a 36 y 39,5 °C, con los siguientes resultados a las 48 horas:

a) Vacuna: Crece a ambas temperaturas y en ambas células renales.

b) Viruela: Sólo crece a 36 °C y en células de riñón de mono.

c) Varicela: Ningún efecto citopatogénico en estas células.

En las células infectadas puede demostrarse, junto al efecto citopatogénico, la presencia de partículas víricas mediante reacciones de inmunofluorescencia directa (a las 24 horas) y hemadsorción con hematíes de pollo (tercer día).

La identificación del virus aislado en los cultivos debe completarse mediante las reacciones inmunológicas frente a inmunosueros específicos de conejo. Se utilizan reacciones de neutralización, fijación de complemento, inhibición de hemaglutinación y gelprecipitación.

Indirecto

Los tests serológicos no tienen gran valor práctico, ya que la aparición de anticuerpos en la enfermedad es muy tardía (a los 10-15 días de la erupción) y los títulos altos persisten en los sujetos vacunados. Sin embargo, tendrían utilidad en las formas sin gran erupción de los sujetos vacunados hace tiempo o para estudiar la evolución de los anticuerpos en los sujetos vacunados. Se requiere en todos los casos la toma de una muestra precoz de suero al comienzo de la enfermedad y otra tardía en la fase de convalecencia, lo que permite observar la evolución de la tasa de anticuerpos.

Las reacciones más empleadas son la fijación del complemento y la inhibición de la hemaglutinación, porque son, además, los primeros anticuerpos en desaparecer. Eran menos usadas la neutralización y gelprecipitación.

Inmunidad

La inmunidad puede adquirirse por anticuerpos maternos (que dura de 3 a 6 meses tras el nacimiento), o vacunación, y aparecen aquéllos a los 8-9 días de ésta y se mantienen de 3 a 5 años. La inmunidad de los que padecen la viruela es mucho más duradera. La globulina γ específica protege a un 70 % de los no vacunados.

Esta inmunidad se debe a anticuerpos neutralizantes, que actúan sobre los poxvirus a nivel intra y extracelular. Pero, además, se observó que pacientes con hipogammaglobulinemia reaccionaban normalmente a la vacuna y desarrollaban una buena respuesta, fuera de la presencia de anticuerpos. De ahí que la respuesta de base celular tenga tanta importancia o más que la inmunidad humoral.

Por último, en el proceso de infección celular se liberan cantidades de interferón, que, al bloquear la síntesis vírica, constituyen otro mecanismo de defensa. Por todo ello, se considera que la inmunidad frente a los poxvirus es una combinación de los diferentes tipos de respuesta inmune.

Epidemiología

La transmisión de la viruela es de hombre a hombre, a partir de las secreciones de las vías aéreas y costras desecadas de la piel de los enfermos o sujetos en período de incubación. El contagio puede ser directo, aéreo o a través de objetos, sábanas, etc., o polvo formado por barrido o al hacer las camas; el virus puede resistir largo tiempo desecado en todo tipo de fomites y producir infecciones a distancia del foco originario.

La viruela se presentaba hace años como endémica en ciertas áreas y epidémica en otras, donde aparecían brotes a partir de un enfermo importado de aquéllas, que afectaban a los que convivían con él y al personal hospitalario, que habían estado en contacto con dicho caso importado.

Profilaxis

El 14 de mayo de 1796, Jenner realizó por vez primera una vacunación a un niño a partir de las pústulas de una vaquera con *cowpox*. Desde entonces hasta el 26 de octubre de 1977, en que se dio el último caso de viruela natural en Somalia, toda una estrategia de la OMS, comenzada en 1967, ha conseguido un éxito total, basada en los siguientes tres puntos:

1. Producción de grandes cantidades de vacuna, conservadas en liofilización.
2. Empleo de técnicas muy sencillas de inmunización, como la aguja de acero bifurcada para multipuntura o pistolas a presión.
3. Búsqueda de casos mediante vigilancia intensiva y contención de brotes epidémicos, unidas a un sistema eficaz de notificación de casos sospechosos.

Gracias a estas pautas y a la ayuda técnica y económica masiva, prestada por la OMS, UNICEF, etc., se ha logrado erradicar esta enfermedad, si bien quedan algunos puntos que hay que valorar en el futuro:

1. Existencia de laboratorios en diversos países que poseen virus variólico, que en un momento determinado pueden dar brotes en el personal de ellos, como el ocurrido en el brote «artificial» de Birmingham, en 1978.
2. Posibilidad de un reservorio animal del virus humano, que permita la persistencia selvática de la enfermedad. Este hecho no se ha demostrado aún.
3. Posibilidad de que poxvirus animales *(monkeypox)* den brotes epidémicos en el hombre. Hasta ahora han sido casos muy aislados y sin trascendencia epidémica.

VACUNA

El origen del virus vacunal no está aclarado. Si bien las cepas utilizadas por Jenner provenían del *cowpox*, hoy día ambos virus difieren claramente, por ejemplo, en las lesiones que causan en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo. Quizás el uso primero de la vacunación brazo a brazo y el mantenimiento después en animales durante gran cantidad de años hayan producido las variaciones que actualmente podemos comprobar y hacen pensar en un virus recombinante de los de origen humano y bovino.

La vacuna antivariólica se puede obtener por recogida de las lesiones experimentalmente provocadas en animales (ternera, oveja), cultivo en embrión de pollo o cultivos celulares. El virus, a diferencia del variólico, puede inocularse en la piel de conejos. La conservación de la vacuna puede realizarse mediante antisépticos o mejor por liofilización.

Las técnicas de la inmunización han sido muchas: escarificación cutánea, uso de pistola a presión, punturas o presiones múltiples con aguja bifurcada. Esta última parece ser la más idónea y rápida para campañas de vacunación masiva, y además ahorra gran cantidad de linfa vacunal.

La vacuna antivariólica, que era obligatoria en España desde 1903, ha dejado de serlo en 1980, y por ello sus indicaciones actuales quedan reducidas al personal de laboratorios donde se mantienen virus variólicos. Por ello, no nos detenemos en las reacciones (a la primovacunación o revacunación) ni en las complicaciones (encefalitis, eccema, etc.) y contraindicaciones, que, ampliamente estudiadas hace pocos años, son hoy parte de la historia de la medicina.

MONKEYPOX

Este *orthopoxvirus* fue identificado por vez primera en un brote epidémico en monos enjaulados del género *Cynomolgus*, con un cuadro clínico muy similar al de la viruela humana. Desde 1970, unas decenas de casos humanos han sido descritos en zonas selváticas y húmedas del Africa Occidental; la mayoría de los pacientes eran niños no vacunados y la tasa de mortalidad fue de un 15 %. No parece haberse demostrado el contagio interhumano, sino que la infección se adquiriría por contacto con los monos bien por usar sus pieles, en cazadores, o como alimentación. El diagnóstico diferencial con la viruela, pues clínicamente son iguales, se establece por las lesiones pequeñas, vesiculares y hemorrágicas, que produce en la membrana corioalantoidea del huevo inoculado.

Los estudios realizados hasta la fecha no han puesto de manifiesto ningún indicio de que el virus pueda mutar al variólico, cuyas diferencias genéticas son, por otro lado, muy marcadas.

COWPOX

La viruela de la vaca produce unas lesiones vesiculares en las ubres de las vacas, desde donde se transmite a las manos del hombre. El cuadro se limita a la piel y sólo aparece en Europa; en casos graves puede cursar con lesiones hemorrágicas y ulcerativas, incluso con fiebre alta. Pero, en líneas generales, la clínica y la evolución son parecidas a las de una vacuna, pero con signos locales y generales más acentuados.

El virus es muy semejante al vacunal, del que se distingue por las lesiones que produce en la corioalantoides y sus caracteres genéticos. Existe una inmunidad cruzada entre *cowpox*, vacuna y viruela; así, esta enfermedad de los vaqueros puede prevenirse también por la vacuna de Jenner.

PARAPOXVIRUS

La dermatitis pustular contagiosa de las ovejas *(Orf)* es un cuadro de estos animales con pústulas en la boca, córnea y patas, y puede ocasionar en sujetos profesionalmente ligados a aquellas lesiones granulomatosas en las manos o cara. El virus, similar al vacunal, es más pequeño, etersensible y no hemaglutinante, y no crece en membrana corioalantoidea. Existe una vacuna para el control veterinario de la enfermedad.

El virus del nódulo de los lecheros da un cuadro clínico denominado seudo-*cowpox* en las vacas, con pequeñas lesiones papulovesiculares en las ubres, de evolución benigna. Se ha observado tanto en Europa como en Estados Unidos y Oceanía, y los casos humanos aparecen como nódulos rojizos y ulcerados, en las manos y brazos de los ordeñadores, sin fiebre ni complicaciones.

La estomatitis papular de las vacas, descrita en Estados Unidos, puede afectar también al hombre, con un cuadro similar a los anteriores.

Estos tres virus no poseen relaciones antigénicas con el *vaccinia*, y las enfermedades que producen no se previenen con la vacuna antivariólica.

MOLLUSCUM CONTAGIOSUM

Es una enfermedad exclusivamente humana, que se contraería por contacto, tras 2 a 8 semanas de la inoculación. El virus, de 230 × 330 nm y filiación incierta, da lugar a pápulas o pequeños tumores epiteliales, umbilicados y duros, localizados en cara, cuello, brazos y región perineal. Las células epiteliales poseen grandes inclusiones eosinófilas intracitoplásmicas, que desplazan el núcleo hacia la periferia. En su interior aparecen partículas víricas, tipo poxvirus, fácilmente observables al microscopio electrónico. Se cultiva sólo en células humanas o de monos. Las lesiones son benignas, pero tardan varias semanas o meses en desaparecer.

TANAPOX Y YABA

Ambos virus dan cuadros en los monos y se encuentran serológicamente relacionados. *Tanapox* fue aislado en lesiones dérmicas de los monos de Kenia, y se han observado casos en niños, relacionados con aglomeraciones de hombres y simios en épocas de inundaciones. No crece en embrión de pollo y podría transmitirse por artrópodos.

El virus del tumor del mono *Yaba* se ha aislado en lesiones pseudotumorales de estos simios de Africa Occidental y en sujetos inoculados accidentalmente. Da lugar en éstos a nódulos que desaparecen en 8 a 12 semanas. El virus se aísla fácilmente de los tejidos tumorales, con los caracteres de un poxvirus, si bien se multiplica sólo en células de mono y posee un G + C de 32 %, a diferencia de los otros poxvirus.

BIBLIOGRAFIA

Baxby, D.: Identification and interrelationships of the *variola/vaccinia* subgroup of poxviruses. Prog. Med. Virol., 19, 215-246, 1975.

Baxby, D.: Poxvirus hosts and reservoirs. Arch. Virol., 55, 169-179, 1977.

Breman, J. G., Kalisa-Ruti y Steniosuski, M. W.: Human monkeypox 1970-79. Bull. WHO, 58, 165-182, 1980.

Editorial: Medidas de seguridad en microbiología. Normas mínimas de seguridad para los laboratorios. Crónica de la OMS, 34, 157-160, 1980.

Fenner, F.: Portraits of viruses: The poxviruses. Nature, 276, 16-19, 1979.

Matthews, R. E. F.: Classification and Nomenclature of Viruses, 160-165. Third Report of the I.C.T.V. Karger, Basel, 1979.

Piédrola Gil, G., y Piédrola-Angulo, G.: La viruela, enfermedad pestilencial prácticamente erradicada del mundo. Arch. Fac. Med. Madrid, 6, 353-396, 1977.

Piédrola Gil, G., y Piédrola-Angulo, G.: Problemática ante la erradicación de la viruela. Posible desaparición de otras enfermedades transmisibles. An. Real Acad. Nac. Madrid, 97, 4, 559-596, 1980.

Relevé Epidémiologique Hebdomadaire: Elementos de seguridad en los Laboratorios, 54, 340-342, 1979.

Zuckerman, A.: The enigma of poxviruses. Nature, 276, 16-19, 1979.

Capítulo 56

Herpesvirus

Gonzalo Piédrola-Angulo

La familia *Herpesviridae* está constituida por virus ADN icosaédricos, con un tamaño de 120-200 nm y cuya estructura posee, de fuera a dentro, una doble envoltura originada en la membrana nuclear de la célula huésped, un cápside de 162 capsómeros y un core con el ADN bicatenario de 80-150 x 10^6 de peso molecular. Su replicación es intranuclear y destaca su clara afinidad por los tejidos derivados del ectodermo, epitelios y sistema nervioso. Existen herpesvirus patógenos para el hombre, los animales e incluso los hongos, y se han descrito más de 70 especies.

Los herpesvirus de importancia en medicina humana se recogen en la tabla 56-1 y se dividen en tres subfamilias:

1. *Alphaherpesvirinae*, con tres tipos: tipo 1, virus del herpes simple labial (VHS-1); tipo 2, virus del herpes simple genital (VHS-2), y tipo 3 ó virus de la varicela-herpes zoster (VVZ).
2. *Betaherpesvirinae* o tipo 5, citomegalovirus (CMV).
3. *Gammaherpesvirinae* o tipo 4, virus de Epstein-Barr (VEB).

Todos ellos se caracterizan porque pueden persistir en las células infectadas sin dar cuadro clínico alguno (latentes), producen infecciones recurrentes y algunos de ellos están relacionados con procesos tumorales.

VIRUS DEL HERPES SIMPLE

Características generales

Cultivado y aislado en 1931, en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo, la partícula vírica es de 180 a 200 nm y consta de:

1. Un nucleoide central de 30 nm, con un ADN bicatenario y proteínas.
2. Un cápside de 85-110 nm de diámetro, icosaedro regular de 162 capsómeros, de los que 12 son pentámeros, situados en los vértices, y 150 hexámeros, repartidos sobre las caras y a lo largo de las aristas. Los capsómeros de los vértices tienen forma de prismas pentagonales y los otros, forma de prismas hexagonales (subunidades). Todos los capsómeros tienen una longitud de 120 Å y un diámetro de 95 Å, con un canal axial de 40 Å. El cápside observado al microscopio electrónico tiene tres capas concéntricas: dos opacas y una central transparente.
3. Una envoltura periférica derivada de la membrana nuclear de la célula parasitada, con dos capas opacas bien definidas y una transparente entre ellas.

Al microscopio electrónico puede comprobarse la existencia de partículas completas, desnudas (sin envoltura), envolturas vacías (sin ADN vírico) y desnudas vacías.

Químicamente, los virus están formados por un 7 % del ADN bicateriano lineal, con un G + C muy alto de un 68-70 % y un peso molecular de 96 x 10^6. La envoltura contiene un 22 % de lípidos y un 1 % de glúcidos, y el 70 % restante es de proteínas, que se hallan en los tres niveles morfológicos antes citados.

Antigénicamente se distingue un antígeno V, de la partícula vírica, responsable de reacciones de fijación de complemento; un antígeno N, soluble y neutralizante, y un antígeno S, soluble, responsable también de reacciones de fijación de complemento.

Desde el punto de vista físico-químico son virus muy frágiles, que se inactivan a temperatura ambiente por el calor (56 °C durante media hora), éter, alcohol, antisépticos, radiaciones ultravioletas, etc. Resisten, por el contrario, la dese-

Tabla 56-1. Principales herpesvirus de importancia humana y sus diferencias

		Cultivos celulares			Acción patógena	
Herpesviridae	Huevo embrionado	Tipos de células	Crecimiento	Sincitios	Conejo, ratón	Hombre
Alfaherpesvirinae: virus del herpes simple	+	Variados	Rápido	v	+	+
Alfaherpesvirinae: virus de la varicela y del herpes-zoster	–	Escasos	Lento	+	–	+
Betaherpesvirinae: citomegalovirus	–	Escasos	Lento	Citomegalia	–	+
Gammaherpesvirinae: virus de Epstein-Barr	–	Escasos	Lento	–	–	+

cación, el frío (–70 °C) y los ciclos de congelación-descongelación rápida.

Se cultivan en embrión de pollo y en cultivos celulares. En la membrana corioalantoidea a 37 °C y en 1-4 días (rápidamente, por lo tanto), dan unas vesículo-pústulas, de 1-2 mm de diámetro, redondas y muchos más pequeñas que las de los poxvirus, de las que se diferencian claramente. En ellas se demuestran células con cuerpos de inclusión intranucleares. Los cultivos celulares son los métodos de elección, y pueden emplearse células del primer explante (riñón de mono, cordero o, sobre todo, de conejo, cepa RK/13), de línea continua (HeLa, KB, HEp 2, Detroit 6, BHK 21 [fibroblastos de pollo]) o diploides humanas, como los fibroblastos (cepa WI 38). El efecto citopatógeno es bien claro: a las 24 horas (rápidamente) aparecen placas de lisis, con células gigantes o sincitios, en las que se demuestran inclusiones intranucleares eosinófilas, tipo A, Feulgen-negativas, que marginan la cromatina nuclear, separada del cuerpo de inclusión por un halo claro. Los nucléolos desaparecen, a diferencia de las lesiones producidas por los adenovirus. Estos son los cuerpos de inclusión, descritos por Lipschütz, en 1921.

El ciclo de multiplicación del virus es el siguiente: Tras la adsorción y penetración del virus, éste pierde su envoltura y queda en el citoplasma. Se descapsula y el ADN libre comienza a codificar la síntesis de enzimas de replicación (timidinquinasa, ADN-polimerasa y ADN-asa, y ARN-polimerasa ADN-dependiente) y el ARN mensajero. Este dirige la síntesis de tres grupos de polipéptidos, denominados α (proteínas no estructurales), β (proteínas no estructurales y algunas estructurales) y γ (estructurales). El ADN se replica en el núcleo y las proteínas de la estructura en el citoplasma pasan al núcleo, donde tiene lugar la encapsidación y ensamblaje de las partículas. Al atravesar el cariolema, aquéllas adquieren la envoltura o peplos. Sólo el 20 % del ADN sintetizado se incorpora a las cápsulas, lo que explica la existencia de partículas vacías y desnudas. Los viriones quedan mucho tiempo en el retículo citoplásmico y pueden pasar de célula a célula, a pesar de la existencia de anticuerpos en el medio extracelular. Los viriones se liberarían por lisis celular.

Por su origen, diferentes cuadros clínicos producidos y reacciones inmunológicas, se distinguen dos tipos de virus del herpes simple: tipo 1 (VHS-1) y tipo 2 (VHS-2), cuyas diferencias se recogen en la tabla 56-2.

Tabla 56-2. Diferencias entre los dos tipos de virus del herpes simple

Virus del herpes simple	VHS-1	VHS-2
Procedencia	Bucal	Genital
Acido nucleico: G + C	67 %	69 %
Lesiones en membrana corioalantoidea (diámetro)	Menores (0,2-0,5 mm)	Mayores (0,8-1,5 mm)
Placas en cultivos de fibroblastos humanos	Pequeñas	Grandes
Sincitios en cultivos celulares	No	Sí
Termolabilidad	Menor	Mayor
Resistencia a la 5-yodo-2-desoxi--uridina (IDUR)	Menor	Mayor
Densidad de flotación en cloruro de cesio	Menor	Mayor
Neutralización o fluorescencia con sueros anti-VHS-1	Positivas	Negativas
Neutralización o fluorescencia con sueros anti-VHS-2	Negativas	Positivas

Acción patógena

Experimentalmente puede conseguirse la inoculación en el conejo por vía subcutánea (con aparición de vesículas), escarificación corneal (queratitis) o intracerebralmente, dando lugar a una encefalitis. El ratón recién nacido, hámster y mono son también sensibles por esta vía. En todas las lesiones producidas es posible la demostración de células con corpúsculos de Lipschütz.

La transmisión de los herpesvirus generalmente se produce por contacto oral directo en el VHS-1 y por contacto genital, orogenital o genitoanal en el VHS-2. La infección perinatal es posible en ambos virus. El período de incubación es muy variable, generalmente de 2 a 12 días.

En el hombre, los herpesvirus demuestran su afinidad por las células ectodérmicas de la piel y del sistema nervioso. En la primera da lugar a unas vesículas cuyo techo es la capa córnea y su base está en células gigantes, en cuyo número aparecen los cuerpos de Lipschütz. Las infecciones por virus VHS pueden ser de tres tipos diferentes: infecciones primarias, que ocurren en ausencia de anticuerpos detectables, infecciones no primarias del primer episodio, en las que existen anticuerpos séricos contra antígenos víricos en la fase aguda del cuadro clínico, e infecciones recurrentes, que ocurren siempre en presencia de anticuerpos séricos neutralizantes. En la gran mayoría de los casos (90 %), la primoinfección VHS-1 tiene lugar en la infancia (6 meses a 2 años) y no se traduce por signos aparentes, por lo que pasa casi siempre inadvertida, y sólo puede demostrarse la aparición de anticuerpos específicos en el suero. En un 10 % de los casos y, sobre todo, en lactantes, puede aparecer un cuadro clínico caracterizado por la lesión vesiculosa en diferentes localizaciones.

La localización más común del cuadro por VHS-1 se halla en la boca y labios (fig. 56-1); tras 1 ó 2 días de quemazón, aparecen las vesículas y úlceras, confluentes o no, más o menos dolorosas y molestas; pueden persistir hasta 2 semanas. La fiebre y una adenopatía cervical suelen acompañar la lesión mucosa. En los niños, las vesículas aparecen sobre todo en la parte anterior de la cavidad bucal (labios, mejillas, lengua y paladar), mientras que en los adultos puede aparecer, además, una intensa faringitis o amigdalitis, similares a las producidas por estreptococos betahemolíticos.

El virus, tras replicarse en las células de la piel y mucosas, emigraría centrípetamente a lo largo de los nervios sensitivos y permanecería latente en los ganglios respectivos (del trigémino en caso de infección oral). Las recurrencias aparecerían cuando los virus se reactivan por diversos estímulos caminando centrífugamente por los mismos nervios, y se replicarían en las zonas correspondientes orales, con las típicas vesículas. Entre las causas de reactivación se encuentran estímulos inespecíficos, tales como las infecciones febriles, traumatismos, radiaciones solares o ultravioletas, neurectomías, modificaciones hormonales (herpes catamenial) e incluso shocks emocionales.

Estudios serológicos han comprobado que, al contrario que la infección por VHS-1, que tiene lugar en la primera infancia, la infección por VHS-2 aparece con la época de la

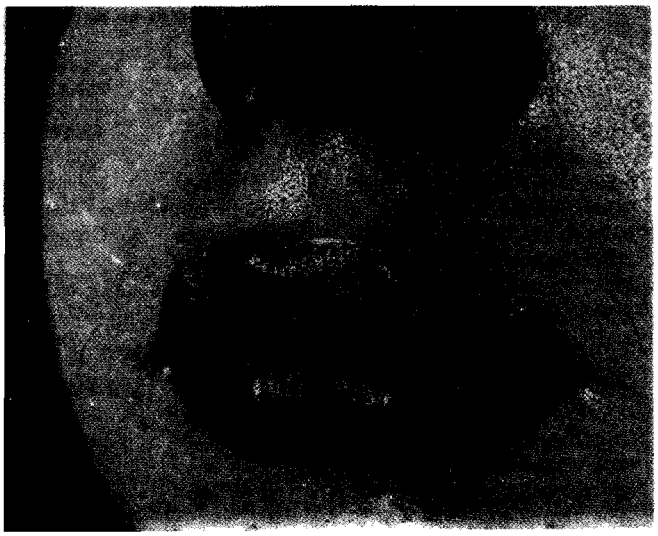


Fig. 56-1. Herpes labial por virus del herpes simple.

actividad sexual. El VHS-2 se transmite por contacto sexual y en un 30 % de los casos no da sintomatología alguna. Los cuadros clínicos se observan preferentemente en jóvenes adultos, de vida sexual promiscua, con aparición del cuadro vesiculoso herpético en prepucio o pene, en el varón, y vulva, vagina y cérvix, en la mujer. Lesiones anorrectales y perianales pueden aparecer en ambos sexos, pero principalmente en hombres homosexuales, siendo muy dolorosas y con tendencia a la ulceración y síntomas neurológicos. Las recidivas son muy frecuentes, pero destaca el alto porcentaje de infecciones subclínicas, quizá cervicales, en la mujer. Los títulos de anticuerpos en la población (50 %) indican la frecuencia de la infección, que se encuentra relacionada con el cáncer de cuello de útero (cap. 68).

Además de las infecciones orales y genitales, los virus del herpes simple pueden dar lugar a los siguientes cuadros:

1. Queratitis, acompañadas o no de afectación de la conjuntiva, que en casos graves o sometidos a tratamientos locales con corticoides pueden llevar a graves opacidades corneales. Se trataría tanto de formas primitivas como de recurrencias.
2. Infecciones de la piel (eccema herpético infantil) o dedos (típicas de los odontólogos).
3. Encefalitis, que suelen ser graves y dejar importantes secuelas en los supervivientes; predominan en la edad infantil.
4. Infecciones perinatales, producidas al infectarse el niño en el momento del parto, apareciendo a las 2-3 semanas un cuadro generalizado en piel, mucosas, vísceras y cerebro, con muy alta mortalidad. También pueden aparecer casos con afectación sólo cutánea o del sistema nervioso central; suelen darse este tipo de cuadros en mujeres con infecciones primarias al término del embarazo, con o sin síntomas de enfermedad herpética activa.
5. Infecciones en el huésped comprometido. En estos pacientes, las infecciones por VHS se caracterizan por una progresiva extensión de la enfermedad local, que va afectando las zonas cutaneomucosas con úlceras profundas, así como el esófago, tráquea y pulmones. Parecen ser especialmente susceptibles los sujetos con hemopatías malignas y los sometidos a trasplante renal, cardiaco y de medula ósea. Este riesgo lo poseen los sujetos con frecuentes contactos homosexuales pasivos, que llevan a una inmunodepresión y los enfermos del SIDA (cap. 68).

Diagnóstico

La mayoría de las infecciones cutaneomucosas se pueden diagnosticar por la historia clínica y la exploración. Sin embargo, el diagnóstico etiológico definitivo sólo puede establecerse por el laboratorio.

El diagnóstico directo se verifica por toma de las lesiones vesiculosas, LCR, garganta, secreciones genitales o muestras oculares, y observación en las células de los corpúsculos de Lipschütz o, al microscopio electrónico, de las partículas víricas. Pero las técnicas más exactas son las de inmunofluorescencia directa y ELISA, hoy muy mejoradas por el uso de los anticuerpos monoclonales, o el aislamiento por cultivo en embrión de pollo y cultivos celulares, en los que, además de las lesiones características, puede aislarse el virus y, por neutralización con sueros patrón-específicos, identificarlo. La encefalitis herpética se diagnostica por inmunofluorescencia o microscopia electrónica, que demuestran los virus en cortes de cerebro, obtenidos por biopsia del lóbulo temporal. Las diferencias entre VHS-1 y VHS-2, además de establecerse por los criterios citados en la tabla 56-2, puede realizarse por inmunofiltración, análisis cinético de neutralización y técnicas de hibridación de ADN.

El diagnóstico indirecto no es de gran utilidad y se realiza por reacciones de fijación de complemento, neutralización, inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación pasiva, ELISA, etc. Como siempre será de gran valor el comprobar la cuadriplicación de un título en dos tomas consecutivas o la demostración de que se trata de anticuerpos IgM.

Para el tratamiento de las infecciones por VHS, se ha utilizado tópicamente el 5-yodo-2-desoxiuridina (IDU) y también el arabinósido de adenina (Ara A) y la trifluorotimidina, con resultados diversos. El tratamiento de elección es el aciclovir, derivado de la guanosina, que actúa como un sustrato específico de la timidinquinasa inducida por los VHS. Estaría especialmente indicado en el tratamiento y profilaxis del herpes recurrente genital y de las infecciones en huéspedes inmunocomprometidos. Las vacunas y γ-globulinas anti-VHS se encuentran en experimentación muy avanzada.

VIRUS DE LA VARICELA-HERPES ZOSTER

Características generales

Este virus (VVZ) posee las características morfológicas, químicas y estructurales de las *Alfaherpesvirinae*. Su fragilidad es mayor que la del VHS, pues sólo se conserva en células infectadas en nitrógeno líquido a −190 °C.

No crece en el embrión de pollo (tabla 56-1), diferencia importante con los virus del herpes simple y con los poxvirus. Durante muchos años, diferenciar viruela y varicela fue un problema virológico de gran trascendencia y el creci-

miento en la membrana corioalantoidea del poxvirus era una prueba importante; VVZ sólo crece en células de origen humano, como la cepa WI-38, que es la de elección. En ellas da lesiones intranucleares semejantes a los corpúsculos de Lipschütz, pero se conservan los nucléolos a diferencia de lo que ocurre en el VHS. En las células de las vesículas de varicela aparecen células gigantes multinucleadas, con inclusiones nucleares eosinófilas. Los estudios del ADN vírico, mediante endonucleasas de restricción han demostrado que existe más de una cepa de virus. No hay animales de experimentación susceptibles.

Acción patógena

La varicela y el herpes zoster son dos manifestaciones clínicas diferentes de un mismo virus.

Varicela

Es una infección epidémica estacional, muy contagiosa, que se presenta con preferencia en la edad infantil (2-6 años), en primavera e invierno. El contagio se produce por contacto con el líquido de las vesículas y probablemente por vía respiratoria. El virus se multiplica en las células del epitelio respiratorio de las vías superiores, invade la sangre y se localiza en la piel, pulmones y vísceras. Deja inmunidad de larga duración.

El período de incubación es de 12-18 días; la enfermedad comienza lentamente con una erupción que afecta la cara y tronco, y, menos veces, los miembros (fig. 56-2). Cada elemento cutáneo evoluciona pasando por las fases de mácula, pápula y vesícula; las vesículas son superficiales y pueden convertirse en pústulas por infección bacteriana secundaria. El exantema se presenta en varios brotes, y por esto los elementos cutáneos se encuentran en distintas fases, produciendo el aspecto abigarrado característico de la enfermedad («signo del cielo estrellado»). La enfermedad es benigna, a excepción de la varicela neonatal; las complicaciones son raras, y puede presentarse una encefalitis a los 10 días de aparición del exantema, que ocasiona una alta mortalidad y diversas secuelas nerviosas. En individuos inmunodeprimidos (p. ej., niños con leucemia) pueden desarrollarse cuadros fatales, con neumonía, diseminación visceral o varicela hemorrágica.

Herpes zoster (del griego, cinturón)

Es una afección esporádica que se presenta en adultos; por lo general, la varicela clínica o subclínica constituye la primoinfección, mientras que el herpes zoster es una infección recurrente producida por una reactivación del mismo virus por estímulos diversos (frío, radiaciones, presión de un nervio, fármacos inmunodepresores, neoplasias, tuberculosis, trasplantes, etc.), con invasión de los nervios a partir de uno o varios ganglios nerviosos espinales, donde se mantendría latente durante varios años, y se ha podido demostrar por microscopia electrónica, inmunofluorescencia e incluso cultivándolo por técnicas de cocultivo celular. Clínicamente se caracteriza por la aparición de febrícula y una erupción vesiculosa unilateral, de topografía radicular, con dolor intenso, localizada en el área de distribución de los

Fig. 56-2. Adulto joven con varicela. Obsérvense las lesiones en el tronco.

nervios afectos, que generalmente es el tronco (nervios dorsales) (fig. 56-3), pero puede tener otras localizaciones (cabeza, cuello, etc.). A veces se observan parálisis como consecuencia de la afectación del asta anterior. La infección puede ser recurrente en sujetos inmunodeprimidos. Cuadros de meningoencefalitis pueden aparecer después de varicela o herpes zoster y plantean problemas diferenciales con cuadros clínicos similares.

Diagnóstico

Normalmente se establece por la clínica, que es muy típica. El virus puede aislarse de las vesículas, observando las partículas al microscopio electrónico o mejor por inmunofluorescencia directa, ELISA o gelprecipitación con el líquido de aquéllas. El cultivo e identificación del virus aislado (cuerpos de inclusión y reacciones de neutralización) confirmarán el diagnóstico directo.

El diagnóstico indirecto se efectúa demostrando un aumento del título de anticuerpos por reacción de fijación del complemento, mediante el antígeno soluble que se encuentra en el líquido del cultivo; también se usan reaccio-

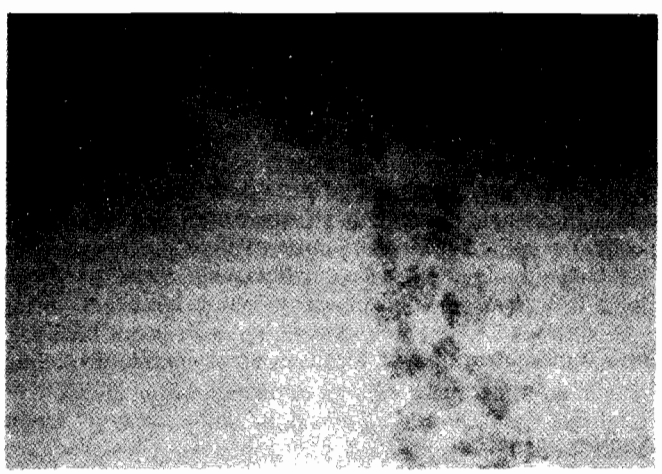


Fig. 56-3. Herpes zoster o zona. Obsérvense las lesiones vesiculosas en el área de una metámera.

nes de neutralización, ELISA, inmunofluorescencia indirecta, etc., que permiten determinar por separado la IgG de la IgM. En las primoinfecciones se observa un aumento simultáneo de IgG e IgM, mientras que, en el zoster, sólo de IgG. En los cuadros de meningitis linfocitaria por VVZ es de gran interés la demostración de anticuerpos IgG específicos en el LCR, mediante técnicas de ELISA, cuya tasa deberá compararse con los niveles de IgG anti-VVZ en suero.

La xenalamina y la γ-globulina específica pueden emplearse para el tratamiento de los casos graves. La γ-globulina anti-VVZ está indicada para prevenir la varicela en niños inmunocomprometidos, siempre que sea administrada en los 3 días siguientes el contacto; más que prevenir la enfermedad, la inmunización pasiva disminuye claramente las complicaciones pulmonares y nerviosas de dichos niños. Dado que el herpes zoster aparece en presencia de anticuerpos séricos, no tiene indicación profiláctica ni terapéutica en este cuadro. El aciclovir sí ha demostrado una gran eficacia.

Una vacuna atenuada con la cepa OKA ha demostrado un gran poder inmunógeno incluso en sujetos inmunodeprimidos, tanto niños como adultos, reduciendo la morbilidad y mortalidad asociadas a la varicela.

CITOMEGALOVIRUS

Características generales

Con un tamaño de 180 a 200 nm tiene un ADN bicatenario con un G + C = 58 % y un peso molecular de 150×10^6. Sobre él se encuentra el cápside icosaédrico de 162 capsómeros y una envoltura lipoide sensible al éter y al cloroformo. El lugar de síntesis de las subunidades es el núcleo y el del ensamblaje de las partículas víricas, el citoplasma y el núcleo. Como en el virus del herpes, pueden aparecer partículas llenas y envueltas, llenas y desnudas, envolturas vacías y desnudas vacías, variantes del proceso de maduración vírica. Es un virus muy sensible al calor, pero resistente al frío (–70 °C).

Sólo es capaz de desarrollarse en fibroblastos humanos embrionarios (WI-38) y no puede crecer en células epiteliales humanas ni en células animales. Las lesiones son lentas en aparecer, pues el ciclo es de 60 a 72 horas. Los primeros focos de degeneración celular se observan a los 8-10 días (2-47), pero debe esperarse 8 semanas para dar los resultados como negativos. Las células aumentan de tamaño (citomegalia), se redondean y se afectan poco a poco, en focos diseminados. Su coloración muestra:

1. Una gran inclusión única, de 15 a 30 μm, nuclear, eosinófila, ligeramente granulada y formada por ADN (Feulgen-positiva) y polisacáridos (PAS-positiva).
2. Una aureola que la rodea, ópticamente vacía, que da el típico aspecto en «ojo de lechuza» u «ojo de búho».
3. Varias (10 a 20) y pequeñas (3 μm) inclusiones basófilas intracitoplásmicas, que se localizan en el aparato de Golgi.

Acción patógena

Por lo general, la infección es inaparente y está asociada con la persistencia del virus en las glándulas salivales y otros tejidos durante largo tiempo (riñón, mama, cérvix, etc.); se demuestra porque es posible aislar el virus a partir de la orina, saliva y adenoides de los niños sanos y, además, porque en el 10-33 % de las autopsias de niños fallecidos por cualquier causa hasta los 14 años se observan en las glándulas salivales células citomegálicas con inclusiones típicas (virus de las glándulas salivales). Un 80 % de los adultos mayores de 35 años poseen anticuerpos, lo que sugiere que la primoinfección en la infancia es la norma.

Epidemiológicamente se conocen las siguientes vías de contagio: placentaria, natal, aérea (por la saliva), sanguínea (el virus se encontraría en la superficie de los leucocitos), por los trasplantes, transmisión sexual, etc. Un 10-50 % de los niños, sanos o subnormales, y adultos tienen virus en la orina o saliva, y porcentajes parecidos se hallan en sujetos con títulos elevados de anticuerpos.

Los cuadros clínicos pueden presentarse por tres mecanismos distintos: infección congénita, natal o adquirida.

Infección congénita, por vía placentaria

Aparece más frecuentemente en madres jóvenes, que se infectan en el embarazo, pero que no lo estaban previamente. En ellas, la enfermedad cursa sin síntomas. En el embrión, si la infección es precoz, produce abortos; si tiene lugar más adelante, aparecerán signos de embriopatía o fetopatía, con partos prematuros, nacidos muertos o enfermedad fulminante que cursa con ictericia, púrpura, anemia, hepatoesplenomegalia, diarrea y síntomas respiratorios.

Los anticuerpos IgA están muy aumentados. Otros casos viven más tiempo, y se observan signos de lesión cerebral: microcefalia, coriorretinitis, espasticidad u oligofrenia.

Al lado de estas formas clínicas de la «enfermedad por inclusiones» hay otras asintomáticas. Así, un 22 % de niños microcefálicos u oligofrénicos, sin diagnóstico previo de enfermedad, muestran títulos altos de anticuerpos.

Infección intranatal

En ella, el feto se infectaría al pasar por el canal materno infectado. El cuadro clínico, si aparece, cursa con enfermedad fulminante o lesiones motoras o mentales residuales. Para algunos, estas infecciones podrían deberse también a la ingestión de leche materna infectada.

Infección adquirida

También es fundamentalmente asintomática, y se observan más claramente los cuadros en huéspedes comprometidos (leucémicos, cancerosos y sometidos a tratamientos con citostáticos, corticoides o antibióticos) y postransfusionales. Los cuadros que pueden manifestarse son:

1. Fiebre de 2 a 5 semanas, con sintomatología pseudogripal. Hepatoesplenomegalia.
2. Mononucleosis postransfusional. Es un cuadro parecido a la mononucleosis infecciosa, pero sin adenopatías ni angina. Cursa con test de Paul-Bunnell-Davidsohn negativo y se debería a la transmisión de citomegalovirus por los leucocitos del donante.

3. Hepatitis, con fiebre persistente e ictericia de larga duración. Las transaminasas están elevadas, así como las fosfatasas. Es de curso subagudo o crónico.

4. Síndrome postransfusional o postrasplante, semejante a los cuadros antes citados o a neumonías. Es la infección más frecuente tras los injertos. Se demuestra por la presencia de virus o de anticuerpos específicos.

5. Enfermedad diseminada por inclusiones, semejante por su cuadro clínico a las reticulosis.

6. Neumonitis.

7. Formas raras serían las anemias, coriorretinitis, enfermedad respiratoria aguda indeterminada, síndrome de Guillain-Barré, etc.

La lesión histológica fundamental en todos estos casos es la aparición de acúmulos de células de gran tamaño (30 a 40 μm), que presentan la gran inclusión intranuclear en «ojo de búho», característica de estos virus. En las infecciones subclínicas, estas células se observan exclusivamente en las glándulas salivales, mientras que en los enfermos se encuentran en los diversos órganos, vísceras y sistema nervioso central. Se ha descrito como frecuente la asociación de este virus con procesos pulmonares por *Pneumocystis carinii* u hongos oportunistas. Estos virus se han relacionado con el sarcoma de Kaposi, los adenocarcinomas de próstata y colon, y el SIDA.

En los animales se presentan cuadros de esta enfermedad en ratas, ratones, monos, etc., pero es específica de especie y, por lo tanto, no se transmitiría al hombre.

Diagnóstico

Se puede efectuar:

1. Demostrando las lesiones típicas anatomopatológicas en las células del sujeto: sedimento de orina, esputos, etc. La filtración y tinción sobre la membrana filtrante favorecen la visualización de las células. Es muy útil una inmunofluorescencia directa.

2. Aislamiento e identificación del virus. Las tomas se efectúan a partir de orina, esputos, saliva, gargarismos, adenoides, exudado del cérvix uterino, vísceras (hígado, riñón, bazo, cerebro) o extractos de fetos o nacidos muertos. Se siembran en fibroblastos embrionarios humanos (WI 38) y se comprobará el efecto citopatogénico típico de estos virus y la identificación por reacciones de neutralización. Como hay portadores sanos de virus, todo aislamiento deberá ser ratificado por posteriores aumentos de las tasas de anticuerpos.

3. Estudio serológico. Se realiza por reacciones de fijación del complemento, neutralización, hemaglutinación pasiva e inmunofluorescencia, pero últimamente las más empleadas son las técnicas inmunoenzimáticas, sobre todo la detección de IgM mediante anticuerpos anticadenas μ adheridas a fase sólida y posterior adición del suero problema y antígeno CMV. Sólo las pruebas adquieren valor diagnóstico cuando se detectan IgM específicas o un aumento del título en dos tomas sucesivas, si son del tipo IgG.

El tratamiento de elección parece ser la 5-fluoro-2-desoxiuridina (dosis de 20 mg/kg de peso y día) asociada a la prednisona.

Una vacuna atenuada, para uso en los receptores de trasplantes, ha dado excelentes resultados (cepas AD_{169} y Towne). Se ha utilizado γ-globulina o plasma de sujetos con títulos altos de anticuerpos específicos, con resultados variables.

VIRUS DE EPSTEIN-BARR

Características generales

Entre 1958 y 1962, Burkitt realizó un estudio en Uganda, sobre un tumor de la cara, que aparecía en niños varones de edades comprendidas entre 5 y 10 años. Se trata de un linfoma maligno epidémico de determinadas áreas de Africa, aunque se ha descrito también en Indonesia y América del Sur, Europa y Estados Unidos. En 1964, mediante cultivo de células linfoides procedentes de enfermos con tumor de Burkitt, Epstein y Barr aislaron un virus (VEB), que, identificado posteriormente, resultó tener las características del grupo de los herpes virus.

El virus se cultiva fácilmente en los fibroblastos del tumor (a diferencia de los fibroblastos normales y leucémicos), y se observaban las partículas al microscopio electrónico en el 1 % de las células; pero, si se disminuye la arginina del medio, se ven en el 75 % de éstas. Posee 162 capsómeros, simetría icosaédrica, envoltura y ADN bicatenario, con un peso molecular de 114×10^6.

Inmunológicamente, se distinguen los siguientes antígenos en el VEB:

1. Antígeno nuclear, que se detecta por inmunofluorescencia de anti-C (ANEB).
2. Antígeno capsídico del virus (ACV).
3. Antígenos tempranos (AT), con dos componentes, difuso (D) y restringido (R).

Por reacciones de fijación del complemento e inmunofluorescencia indirecta se comprueba la presencia de anticuerpos frente al VEB en:

1. Sujetos con linfoma de Burkitt, con tasas muy altas.
2. A tasas bajas en el 80 % de los adultos sanos y en el 50 % de los niños sanos, de Europa y América.
3. En los adultos con un carcinoma nasofaríngeo, del sudeste de China y países norteafricanos.
4. En enfermos de mononucleosis infecciosa (MI). En 1967, se comprobó que el padecimiento de la MI comportaba una seroconversión de los anticuerpos frente al VEB. Además, mientras que de los linfocitos normales no se puede obtener una línea celular continua, de los enfermos de MI sí se obtiene fácilmente, y en éstos se demuestra la existencia de partículas de VEB, que tienen una gran afinidad por los linfocitos tipo B. Por esto, hoy se sabe con seguridad que el VEB es el agente productor de la mononucleosis infecciosa.
5. Asimismo se considera el VEB como causa de alteraciones en varones con síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X, pacientes que padecen inmunodeficiencia combinada grave o ataxia telangiectásica, receptores de trasplantes renales, medula ósea o cardiacos, y también pacientes con SIDA.

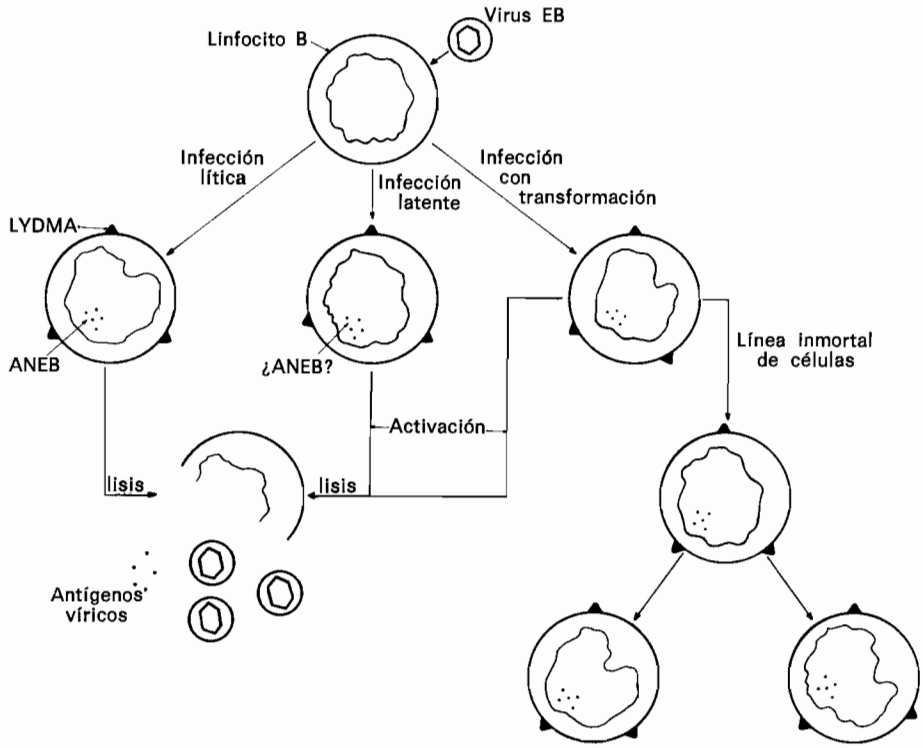


Fig. 56-4. Formas de infección de los linfocitos B por virus de Epstein-Barr. Explicación en el texto.

Acción patógena

El contacto con el VEB en las poblaciones debe ser a muy temprana edad, como demuestran los títulos de anticuerpos, antes citados, en la población sana, infantil y adulta. Cuando no existe este contacto, al llegar a los 15-20 años, el 50 % de los jóvenes pueden padecer la enfermedad. Mediante técnicas de hibridación puntual de ADN, se ha comprobado la presencia de genoma vírico en células bronquiales, lo que supone un estado de latencia del VEB en las células del tracto respiratorio inferior y que la orofaringe pueda ser una fuente importante del virus. La MI aparece en forma esporádica, aunque se han demostrado pequeños brotes en campamentos, residencias, etc. La transmisión se realiza por la saliva mediante las gotitas de Pflügge y núcleos goticulares de Wells; se ha denominado la «enfermedad del beso». Es benigna, con un período medio de incubación entre 10 y 15 días, aunque puede llegar hasta 50 días, y se caracteriza por fiebre, angina y linfadenopatías cervicales; en bastantes casos hay afectación del hígado y bazo.

En la patogenia de la enfermedad, los linfocitos B desempeñan un papel muy importante: los linfocitos B infectados (fig. 56-4) sufren un cambio en sus antígenos de membrana (aparición de *lymphocyte-detected membrane antigen* o LYDMA) y en el núcleo (ANEB). Ello explicaría los tres tipos de infección:

1. Infección lítica, responsable de la replicación y diseminación del virus, con liberación de antígenos y partículas víricas.
2. Infección latente, con permanencia del genoma vírico en el linfocito B, acompañado o no del antígeno ANEB. Si el virus es activado, se iniciaría una infección lítica.
3. Infección con transformación del linfocito B en células capaces de multiplicarse *in vitro* indefinidamente, dando lugar a las llamadas líneas «inmortales»; en sus células se encontrarían los antígenos y partículas víricas. Esta transformación explicaría la facilidad de cultivo de los linfocitos de los enfermos de MI, la persistencia de células con ANEB durante varios años después de la infección, la persistencia de anticuerpos específicos por liberación continua de antígenos víricos e incluso la transformación neoplásica de las células en el linfoma de Burkitt.

Las relaciones entre VEB y los procesos tumorales (Burkitt, carcinoma nasofaríngeo) se citan en el capítulo 68 sobre virus y cáncer.

Diagnóstico

Junto a los datos clínicos de la MI, el diagnóstico de laboratorio se basa en los siguientes datos:

1. Leucocitosis (de 10.000 a 20.000/mm^3), con linfomononucleosis (mayor del 60 %) y la presencia de un 10 % de las llamadas «células de Downey», elementos linfomonocitoides hiperbasófilos, con núcleo dentado y gran tamaño.
2. Pruebas de función hepática alteradas, con aumento de las transaminasas y lactodeshidrogenasas.
3. Títulos elevados de anticuerpos heterófilos por la prueba de Paul-Bunnell-Davidsohn. Los anticuerpos heterófilos son heteroanticuerpos, es decir, anticuerpos producidos por un individuo, que poseen la propiedad de reaccionar con antígenos de otras especies. En este hecho se basó la prueba de Paul y Bunnell, al demostrar títulos altos de

aglutininas frente a los hematíes de carnero; se presentan en la enfermedad del suero, tras la inyección reciente a un sujeto de suero de caballo y en la MI. Para diferenciar esta enfermedad de los casos anteriores, Davidsohn, en 1937, estableció un nuevo procedimiento, utilizando antígeno de riñón de cobayo, que absorbía todos los anticuerpos menos los correspondientes a la MI. Estos anticuerpos, de tipo IgM, aparecen a partir del sexto día de enfermedad en el 85-90 % de los enfermos; desaparecen a los 2 ó 3 meses, y se consideran positivos títulos superiores al 1/32. Hoy día existen sencillos y baratos tests de diagnóstico para la MI sobre el papel, que están muy generalizados.

4. Los anticuerpos aparecen muy precozmente y se mantienen durante muchos años, por lo que es difícil demostrar un aumento significativo de los títulos en el curso de la enfermedad. Se utilizan las reacciones de inmunofluorescencia indirecta y de ELISA. En el curso de la MI, los anticuerpos contra el ACV, tanto de clase IgM como IgG, suelen alcanzar un máximo en el momento de la aparición de los signos clínicos. Además, los anticuerpos IgG contra el componente D del antígeno temprano pueden aparecer de forma transitoria durante el síndrome clínico. Después, a medida que la IgM anti-ACV y anti-AT(D) remite, aparecen los anticuerpos anti-ANEB que, junto con los anticuerpos IgG contra el ACV, suelen persistir durante toda la vida a niveles bajos y estables. En las infecciones asintomáticas, los títulos de IgM anti-ACV son más bajos, y, en lugar de anti-AT(D), aparece una respuesta contra el componente R, generalmente varios meses después de la seroconversión.

La enfermedad no tiene tratamiento específico y las vacunas con antígenos de la envoltura de VEB están todavía en fase experimental.

BIBLIOGRAFIA

Baringer, J. R.: Herpes simplex virus infection of nervous tissue in animals and man. Prog. Med. Virol., 20, 1, 1975.

Corey, L.; Adams, H. G.; Brown, Z. A., y Holmes, K. K.: Genital herpes simplex virus infections: Clinical manifestations, course and complications. Ann. Intern. Med., 98, 958-972, 1983.

Epstein, M. A., y Achong, B. G.: The Epstein-Barr virus. Springer, New York, 1979.

Joncas, J.: Clinical significance of the EB herpes virus infection in man. Prog. Med. Virol., 14, 200, 1972.

Kaplan, A. S.: The herpesviruses. Academic Press, New York, 1973.

Miller, G.: Epstein-Barr herpesvirus and infections mononucleosis. Prog. Med. Virol., 20, 84, 1975.

Nahmias, A.; Dowdle, W., y Schinazi, R.: The human herpesvirus. An interdisciplinary perspective. Elsevier N. Holland, New York, 1981.

Reichman, R. C.: Herpes simplex virus infections. Eur. J. Clin. Microbiol., 5, 399-405, 1984.

Roizman, B.: The herpesviruses, vol. 1, 2 y 3. Plenum Press, New York, 1982.

Swansirikul, S.: Rao, N.; Dowling, J. N., y Ho, M.: Primary and secondary Cytomegalovirus infection. Arch. Intern. Med., 137, 1026, 1977.

Weller, T. H.: The cytomegaloviruses. N. Eng. J. Med., 285, 203 y 267, 1971.

Wollontis, S., y Jeansson, S.: Correlation of herpes simplex virus types 1 and 2, with clinical features of infection. J. Infect. Dis., 135, 28, 1977.

Capítulo 57

Adenovirus y parvovirus

Agustín Pumarola

Adenovirus

CONCEPTO

La familia *Adenoviridae* está constituida por virus sin envoltura de tamaño medio, compuestos por un cápside de simetría icosaédrica, que contiene un genoma con una doble cadena de ADN. Se multiplican en el núcleo de las células que parasitan, son resistentes a los disolventes de los lípidos y en general presentan una gran estabilidad en el medio externo.

Se han aislado del hombre y de diversas especies de mamíferos y aves. La familia *Adenoviridae* se ha dividido en dos géneros, *Mastadenovirus* o adenovirus de los mamíferos con 89 serotipos y *Aviadenovirus* o adenovirus de las aves con 19 serotipos. Los adenovirus humanos se incluyen entre los *Mastadenovirus* y comprenden 34 serotipos que por sus propiedades se pueden clasificar en 5 subgéneros (A → E). Algunos producen infecciones de la mucosa respiratoria y conjuntival, otros, infecciones latentes del tejido linfoide y un reducido grupo presenta propiedades oncógenas para los animales en condiciones experimentales.

MORFOLOGIA

Por microscopia electrónica con tinción negativa (fig. 57-1) se observa que el virión tiene un tamaño de 70-90 nm y está formado por un cápside y una parte central que contiene el genoma. El cápside está compuesto por 252 capsómeros, con 240 hexones situados en las caras y aristas y 12 pentones en los vértices. Cada pentón está formado a su vez por una base en el cápside y una fibra o filamento glicoproteico, que termina en una extremidad engrosada, la cual constituye la hemaglutinina y cuya longitud varía en los distintos subgrupos.

El genoma está constituido por una doble cadena de ADN asociada con dos proteínas básicas, una de las cuales es rica en arginina y forma una estructura semejante a la cromatina. Asimismo, en la extremidad 5′ del ADN se encuentra la proteína K55 relacionada con la replicación. El ADN se caracteriza por presentar en cada cadena las secuencias terminales de bases de forma repetida e invertida, lo que permite la formación de círculos de una sola cadena.

El virión contiene por lo menos 10 proteínas (fig. 57-2 y tabla 57-1), que forman el hexón (proteína II), la base del pentón (III) y la fibra (IV), así como 2 proteínas básicas asociadas con el ADN (V y VII). En el cápside existen, además, 4 proteínas menores (IIIa, VI, VIII y IX), que establecen uniones entre los hexones y pentones, e incluso con las proteínas del ADN, lo que refuerza el cápside y comunica una gran estabilidad al virión. Los adenovirus son sensibles al calor, pero se caracterizan por su resistencia a los disolventes de los lípidos (éter, desoxicolato), pH ácidos y fermentos proteolíticos, lo que explica su estabilidad en el tubo intestinal. En el laboratorio conservan la infecciosidad a diferentes temperaturas (4-36 °C) y pH (6-9).

CULTIVO

Se desarrollan lentamente en cultivos de células epiteliales de origen humano, ya de células primarias o en líneas celulares (HeLa, KB). En células de origen animal (riñón de mono) producen una infección abortiva, a no ser que las cé-

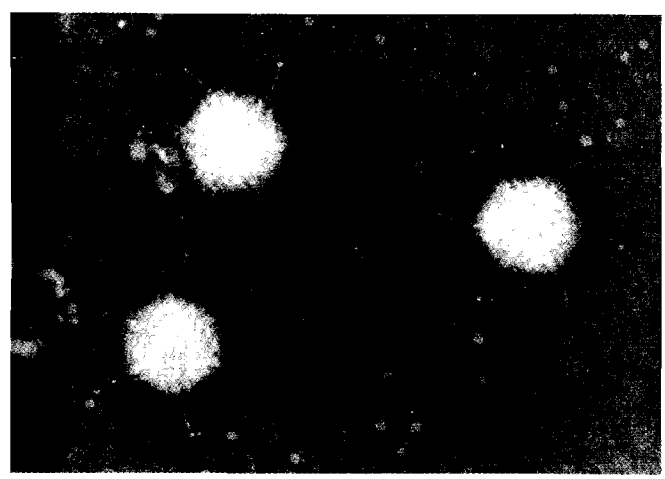


Fig. 57-1. Microfotografía electrónica de adenovirus tipo 5 con tinción negativa (× 200.000). (Tomado de Valentine, J. C., y Pereira, H. G.: J. Mol. Biol., 13, 13, 1965.)

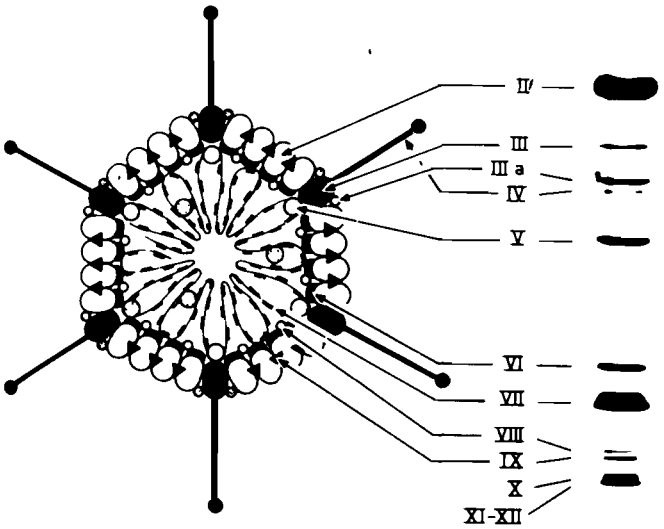


Fig. 57-2. Localización esquemática de las diferentes proteínas estructurales en el virión (adenovirus tipo 2) e identificación por electroforesis en un gel de poliacrilamida con detergente. (Según Philipson, L.; Petterson, V., y Lindberg, V.: Virol. Monogr., 14, 9, 1975.)

lulas se encuentren infectadas por el virus del mono SV-40 (complementación).

El virus se multiplica en el núcleo de las células susceptibles produciendo una acción citopática, caracterizada en que las células se redondean y agrupan formando acumulaciones en forma de racimo, el cultivo celular se retrae (fig. 57-3) quedando espacios vacíos y adoptando el aspecto de una red (subgrupos I, III) y en los demás subgrupos sólo se produce redondeamiento celular. En las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina se observa en una fase inicial la aparición de inclusiones nucleares eosinófilas, Feulgen-negativas, que posteriormente se resuelven en una gran inclusión central basófila y Feulgen-positiva. En algunos adenovirus del subgrupo I (tipos 3 y 7) se observa la presencia de masas cristalinas basófilas (fig. 57-4) y en los del subgrupo III (tipos 5 y 6), grandes cristales eosinófilos en forma de barra que deforman el núcleo y le comunican un aspecto vesiculoso característico. Las inclusiones nucleares son el resultado de la poca eficacia del proceso de maduración que produce una acumulación de los diversos componentes del virión; las inclusiones y cristales basófilos representan acumulaciones de ADN o de viriones, mientras que los cristales eosinófilos constituyen acumulaciones de proteínas del cápside, ricas en arginina.

Cuando el inóculo es masivo, se produce una acción citopática precoz, de naturaleza tóxica, debida a la proteína de la base del pentón (III) y caracterizada en que las células del cultivo se despegan.

En el proceso de replicación, la síntesis de las proteínas específicas del virus se efectúa en el citoplasma de la célula, las cuales emigran posteriormente al núcleo, donde ocurre el proceso de maduración. Es característico que el desarrollo del virus en el núcleo no afecte los nucléolos, a diferencia de los herpesvirus.

El crecimiento del virus se caracteriza, además, en sus fases iniciales, por una acumulación de ácidos orgánicos en el medio de cultivo, por estímulo sobre el metabolismo glucolítico normal de la célula, propiedad que permite demostrar su crecimiento por reacción colorimétrica. Esta adaptación del virus con el metabolismo de la célula huésped explica la facilidad con que produce infecciones latentes.

ESTRUCTURA ANTIGENICA

Los adenovirus contienen diversos antígenos localizados en las proteínas del cápside (tabla 57-1).

El hexón contiene dos antígenos:

1. El antígeno α. Es un antígeno grupoespecífico común en todos los adenovirus humanos, que se demuestra por reacciones de FC. Corresponde a la proteína II y en el hexón se encuentra orientado hacia el interior del virión.
2. El antígeno ε, tipoespecífico, situado en la superficie del virión (subgrupos I y II) y que se demuestra por reacciones de NT.

En el pentón se encuentra:

1. El antígeno β, grupoespecífico, que corresponde a la proteína III de la base del pentón y es el responsable de la toxicidad y acción citopática precoz.
2. El antígeno γ, tipoespecífico, que corresponde a la proteína IV, está situado en el engrosamiento terminal de la fibra o hemaglutinina y se demuestra por reacciones de IH.

Tabla 57-1. Localización de las proteínas y antígenos de los adenovirus

Proteínas	Localización	Antígeno	Especificidad	Reacciones serológicas
II	Hexón (interior)	α	Grupo	FC
–	Hexón (superficie)	ε	Tipo	NT
III	Base del pentón	β (tóxico)	Grupo	
IV	Fibra	γ	Tipo	IH
V	Proteína básica del núcleo	–	–	
VI	Base del hexón			
VII	Proteína básica del núcleo (rica en arginina)	–	–	
	Unión entre hexones			
IIIa	En la superficie			
VIII	En la base		Para grupos de 9 hexones	
IX	En la parte media			
K-55	Proteína ligada a la extremidad 5′ del ADN			

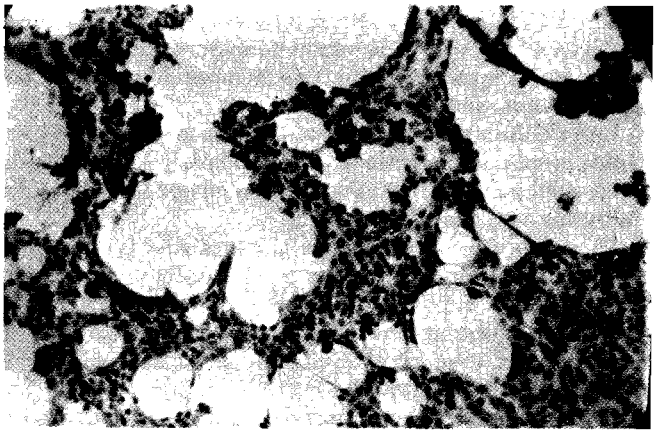


Fig. 57-3. Acción citopática de adenovirus tipo 3 en células HeLa (× 100). Retracción del cultivo y aspecto en forma de red.

Además, hay que considerar el antígeno T, que aparece en las células transformadas cuando el ácido nucleico no induce la síntesis de los antígenos estructurales.

HEMAGLUTINACION

Todos los adenovirus aislados del hombre producen en los cultivos celulares hemaglutininas para los glóbulos rojos de mono (*M. rhesus*) o de rata, lo que ha permitido clasificarlos en cuatro subgrupos hemaglutinantes relacionados a su vez con la longitud de la fibra y la proporción G:C en el ADN, de interés para la identificación de los adenovirus aislados de los enfermos (tabla 57-2).

ACCION ONCOGENA

Los adenovirus presentan especificidad de huésped, de manera que los adenovirus humanos no producen infecciones en los animales de laboratorio, con muy pocas excepciones.

Sin embargo, a partir de los estudios de Trentin se ha demostrado que los adenovirus humanos pueden producir tumores malignos en roedores recién nacidos, en especial en el hámster. Los tipos 12, 18 y 31 presentan un elevado poder oncógeno y producen a los 2-4 meses sarcomas en el lugar de inoculación. Los tipos 3, 7, 14, 16 y 21 presentan un poder oncógeno moderado, por lo que el tumor aparece al cabo de un período de incubación mucho más largo (4-18 meses), y los restantes tipos no presentan capacidad oncógena experimental. En los tumores no puede aislarse el virus, pero se demuestra la presencia en las células infectadas de un antígeno relacionado (antígeno T). El poder oncógeno está relacionado con un menor peso molecular del ADN y un menor porcentaje en su contenido en bases (guanina + citosina).

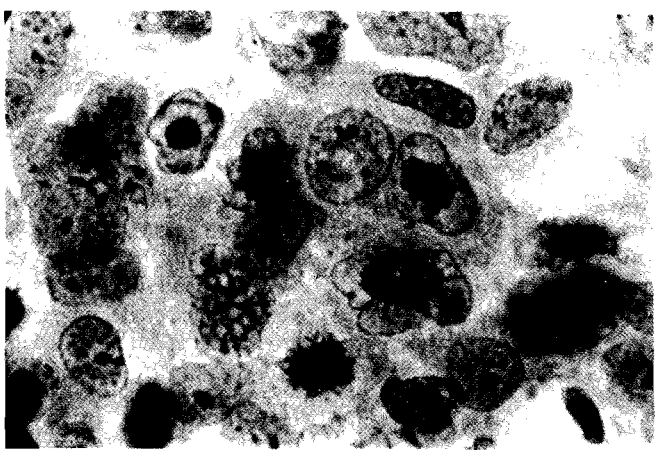


Fig. 57-4. Acción citopática de adenovirus tipo 3 en células HeLa (× 1.000). Alteraciones nucleares.

Se demuestra que estos tumores son producidos por virus, porque la administración de un suero inmune tipoespecífico a animales nuevos previene la aparición del tumor por el serotipo correspondiente. Se supone que la mayor parte del genoma del virus se encuentra integrado en el ADN de la célula, de manera que el genoma incorporado sería defectivo y sólo capaz de dirigir la síntesis de algunos antígenos no estructurales (antígenos T).

Sin embargo, la mayoría de adenovirus, incluso los no oncógenos, son capaces de transformar con baja frecuencia las células de los cultivos (1×10^6), fenómeno que se observa especialmente cuando se inoculan células no permisivas que son las más susceptibles. En estos casos se ha demostrado experimentalmente que basta la integración de un pequeño fragmento del genoma para que se produzca la transformación.

Por otra parte, se ha observado que existe una correspondencia entre los subgrupos hemaglutinantes, la acción patógena y la capacidad oncógena (tabla 57-3).

CUADRO CLINICO

Producen infecciones de la mucosa respiratoria y conjuntival y menos veces del tubo digestivo, que difunden a los linfáticos regionales y afectan con preferencia a los lactantes y niños, también a los adolescentes y en ocasiones a los adultos. Se considera que constituyen del 2-4 % de todas las infecciones respiratorias agudas que se presentan en la comunidad y el 70 % de las que afectan a los reclutas. Son producidas fundamentalmente por serotipos de los subgéneros B, C y E (subgrupos I y III), aunque no es infrecuente que intervengan cepas intermedias que presentan caracteres de dos serotipos.

Los cuadros respiratorios más importantes son:

Faringitis agudas febriles

Son faringitis exudativas semejantes a la estreptocócica y a la producida por otros virus respiratorios, que se presentan en forma endémica en los niños pequeños, de edad preescolar y escolar, y son producidas por los adenovirus del subgrupo III (serotipos 1, 2, 5, 6).

Conjuntivitis foliculares

Son conjuntivitis no purulentas que afectan a niños, adolescentes y adultos jóvenes, producidas por los serotipos 3, 4 y 7.

Tabla 57-2. Clasificación de los adenovirus en subgrupos hemaglutinantes

Subgrupo	Aglutinación de hematíes: Mono	Aglutinación de hematíes: Rata	Longitud de la fibra (nm)	Tipos
I	+	–	9-11	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34,
II	+ o –	+	12-13	8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 33
III	–	Parcial	23-31	1, 2, 4, 5, 6
IV	–	–	28-31	12, 18, 31

Queratoconjuntivitis epidémica

En ocasiones, el proceso inflamatorio conjuntival puede afectar la córnea y comunicar una sensación de cuerpo extraño. Se puede presentar en todos los grupos de edades, pero con mayor frecuencia en forma epidémica entre los trabajadores de industrias pulverulentas por los microtraumas producidos en la conjuntiva, en especial por polvo metálico, como ocurre en los astilleros navales. Intervienen los tipos 8, 11 y 19.

Fiebre faringoconjuntival

Es un cuadro caracterizado por fiebre, faringitis, conjuntivitis con hipertrofia de los ganglios cervicales y quebrantamiento general, que se presenta en la población infantil de forma esporádica o epidémica en verano, especialmente en los niños de edad escolar y adolescentes que se bañan en piscinas (tipos 3, 7 y 14).

Enfermedad respiratoria aguda

Es un cuadro semejante a la gripe producida por los tipos 3, 4, 7, 14 y 21, que se presenta en forma epidémica en los adultos jóvenes durante el invierno, especialmente en los reclutas al poco tiempo de su llegada a los campamentos de instrucción. Se han descrito pocos casos en la población civil.

Neumonías

En los lactantes y niños pequeños, los adenovirus 1, 2, 3 y 7 pueden producir cuadros graves de neumonía y bronquiolitis y en los adolescentes y adultos jóvenes, formas de neumonía atípica asociadas con faringitis, que muchas veces se presenta como complicación de la enfermedad respiratoria aguda de los reclutas (tipos 4 y 7). También se han observado, aunque rara vez, cuadros de neumonía progresiva fatal, en los que se han podido aislar adenovirus del pulmón, especialmente el tipo 7.

Síndrome de tos ferina

También se han aislado adenovirus en lactantes y niños pequeños que presentan cuadros parecidos a la tos ferina (tipos 1, 2, 3 y 5).

Cistitis hemorrágica

Fuera del aparato respiratorio se ha demostrado su intervención en casos de cistitis hemorrágica, en lactantes y niños pequeños, en quienes se ha aislado el tipo 11 en ausencia de cualquier otra etiología.

Procesos del tubo digestivo

También se ha sospechado su relación en procesos del tubo digestivo y se han aislado adenovirus en casos de *diarrea infantil, linfadenitis mesentérica, invaginación intestinal* y *hepatitis* como complicación de procesos generalizados en pacientes inmunodeprimidos.

INFECCIONES INAPARENTES Y LATENTES

Las encuestas epidemiológicas han demostrado que las infecciones por adenovirus son muy frecuentes en la infancia y en su mayoría se presentan en forma de infecciones inaparentes o con síntomas mínimos. Durante la infección, el virus se encuentra en la faringe durante la fase aguda y, algo más tarde, en las heces, donde la eliminación puede

Tabla 57-3. Propiedades de los subgéneros de adenovirus

Subgéneros	Subgrupo hemaglutinante	Tipos	Acción patógena	Capacidad oncógena (hámsters recién nacidos)
A	IV	12, 18, 31	No determinada	Intensa (4 meses)
B	I	3, 7, 11, 14, 16	Infecciones respiratorias agudas: conjuntivitis, faringitis, neumonías. Cistitis hemorrágicas. Gastroenteritis	Débil (4-18 meses)
C	III	1, 2, 5, 6	Infecciones respiratorias endémicas en menores de 5 años. Infecciones latentes	Nula
D	II	8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33	Queratoconjuntivitis epidémica (8, 19)	Nula
E	III	4	Infecciones respiratorias agudas con fiebre y conjuntivitis, especialmente en reclutas	Nula

persistir durante meses, de manera que en el 5-10 % de niños normales se pueden aislar adenovirus de las heces.

Por otra parte, se sospecha la producción de infecciones latentes, pues en el 50 % de niños de edad preescolar y escolar, en los que no se puede demostrar la presencia de adenovirus en la faringe, si después de una amigdalectomía se cultivan fragmentos del tejido amigdalar (explantes), se observa el desarrollo de adenovirus (tipo 1, 2 y 5). Lo mismo ocurre por cultivo de explantes de ganglios linfáticos mesentéricos. Parece que, después de la primoinfección, se pueden producir infecciones latentes en el tejido linfoide, con persistencia del virus en el núcleo de las células infectadas en una forma no demostrable o quizá limitada su difusión por la presencia de anticuerpos.

DIAGNOSTICO

Se efectúa por siembra del producto patológico (secreción rinofaríngea, conjuntival o heces) en cultivos de células Hela o KB. El virus se reconoce por la observación de las típicas alteraciones citopáticas, que pueden ser de aparición tardía, y se aconseja practicar pases ciegos (subgrupos II y IV). Se determina el grupo por RFC, el subgrupo por su capacidad aglutinante de los glóbulos rojos de mono y rata, y el tipo por reacciones de IH o de neutralización frente a sueros tipoespecíficos. También pueden identificarse en las lágrimas, orina y heces por microscopia electrónica y la técnica ELISA.

El diagnóstico serológico se efectúa por la determinación del título de anticuerpos por medio de las reacciones de FC con antígeno de grupo: la prueba es significativa cuando el título es $\geqslant$ 1/64, o cuatro veces superior en la segunda muestra. Sin embargo, la reacción es poco sensible en los niños. Para el diagnóstico serológico de tipo se pueden practicar pruebas de IH y de NT en sueros pares, pero se presentan a menudo reacciones heterólogas.

EPIDEMIOLOGIA

Las encuestas serológicas han demostrado que las infecciones por adenovirus se encuentran muy difundidas en todos los países, especialmente en la población infantil, de manera que en algunas zonas el 80 % de los niños presentan anticuerpos frente a los tipos más frecuentes (1, 2, 3, 5, 6 y 7). En los niños pequeños, las infecciones son por lo general asintomáticas, pero su frecuencia aumenta con la edad, con un máximo en la época escolar; también se presentan en los adolescentes y adultos, pero su frecuencia es menor y están producidas por otros serotipos.

El reservorio es el hombre, especialmente los niños que eliminan el virus por las secreciones respiratorias durante la fase aguda de la infección y por las heces durante mucho más tiempo. En las colectividades infantiles y en el medio familiar se transmite principalmente por vía fecal-oral, mientras que en los campamentos de reclutas, por vía aérea. Debido a su gran estabilidad se pueden transmitir también por el agua (piscinas) e instrumentos contaminados (oftalmología). Los diferentes síndromes clínicos se manifiestan por lo general en *forma esporádica* o *endémica* en la población infantil y pueden presentarse en todos los meses del año, con preferencia desde fines de invierno a comienzos de verano.

En ocasiones pueden presentarse *brotes epidémicos* en niños de edad escolar (fiebre faringo-conjuntival), en trabajadores en medios pulverulentos (queratoconjuntivitis epidémica) y sobre todo en los reclutas (enfermedad respiratoria aguda), en los que aparecen en invierno o primavera, al cabo de poco tiempo de su llegada al campamento, adquieren su máximo a las 4-6 semanas y afectan a la mayoría de los reclutas. Producen cuadros respiratorios benignos, pero en un 50 % de los casos se pueden demostrar infiltrados pulmonares por examen radiológico.

PROFILAXIS

Debido a la poca frecuencia con que los adenovirus afectan a la población civil, no está justificada la vacunación sistemática, excepto quizá para los reclutas. Se han preparado vacunas inactivadas con los tipos 3, 4 y 7, asociadas con el virus gripal, y se ha desechado su cultivo en células de riñón de mono por la posibilidad de que contengan el virus oncógeno SV40 y puedan producirse fenómenos de hibridación y transcapsidación con los adenovirus.

En la actualidad se emplean vacunas con virus activos de los tipos 4 y 7, obtenidos por cultivo en células diploides humanas (WI-38), que administradas por vía oral en cápsulas entéricas producen una infección intestinal subclínica, la cual a su vez induce una protección local de las vías respiratorias. También se estudia la preparación de vacunas purificadas que sólo contengan la proteína del hexón.

Parvovirus

La familia *Parvoviridae* está compuesta por virus sin envoltura, de tamaño muy pequeño (20-25 nm), compuestos por un cápside de simetría icosaédrica, probablemente dividido en 32 capsómeros, que encierra una sola cadena ADN, de polaridad positiva o negativa, y peso molecular 1,5-2,2 $\times 10^6$ daltons. La escasa cantidad de ADN sólo permite codificar las proteínas del cápside, de manera que para su replicación en el núcleo precisa condiciones complementarias de la célula o la presencia de un virus asociado. Se divide en 3 géneros: *Parvovirus*, *Dependovirus* y *Densovirus*, que producen infecciones en los animales, el hombre y los insectos, respectivamente.

Los *Parvovirus* infectan a una gran variedad de animales domésticos y salvajes y se caracterizan en que el proceso de replicación en el núcleo sólo se realiza si la célula se encuentra en fase de división, dando lugar a la formación de cuerpos de inclusión intranucleares que apenas afectan los nucléolos.

Esto hace que en algunas especies el virus pueda transmitirse a la descendencia por vía transplacentaria y producir malformaciones congénitas. Es interesante señalar que dentro del género *Parvovirus* recientemente se han incluido como miembros probables algunos virus aislados del hombre, tales como:

1. El agente semejante a un parvovirus humano (PVLA) o parvovirus sérico B-19, aislado de donadores de sangre asintomáticos, que se considera responsable de las crisis de anemia aplásica en niños con anemia de células falciformes y que también se ha supuesto como el agente causal del eritema infeccioso o 5.ª enfermedad. La infección por parvovirus B-19 despierta considerable interés en la actualidad como posible responsable de malformaciones congénitas.
2. El parvovirus RA-1, aislado de la sinovial de enfermos de poliartritis reumatoide.
3. El virus fecal humano o parvovirus fecal, aislado de casos de diarrea, así como un grupo de virus pequeños y esféricos (SRV_s) que se han aislado de brotes de gastroenteritis, como los agentes Ditchling, W. Cockle y Paramatta, que, si bien fueron relacionados con el grupo Norwalk (cap. 59), por sus características morfológicas se consideran en la actualidad más próximos a los parvovirus.

En los *Dependovirus* se incluyen los virus adenoasociados, virus defectivos que dependen para su replicación de la presencia de adenovirus en fase de multiplicación en la misma célula. Se supone que, en una fase precoz del proceso, los adenovirus sintetizan una proteína necesaria para la replicación del virus (complementación). Por parasitar los virus que a su vez son parásitos de las células se los ha considerado superparásitos.

Presentan un antígeno común, que se puede demostrar por IF y FC. Se dividen en cuatro tipos inmunológicos, de los cuales los tres primeros se encuentran asociados con adenovirus humanos y el último, con adenovirus del mono. Producen infecciones en el hombre en asociación con adenovirus, que se encuentran muy difundidos. Por encuestas serológicas se ha demostrado que la mayoría de la población infantil (70-80 %) y una buena proporción de adultos ($\sim$ 50 %) presentan anticuerpos frente a los tipos 1, 2 y 3. Se han aislado de infecciones clínicas de las vías respiratorias siempre en asociación con adenovirus, no se ha demostrado que su presencia pueda agravar o modificar el cuadro y se considera que la transmisión, infección y manifestaciones clínicas son debidas exclusivamente a los adenovirus.

El diagnóstico se efectúa por aislamiento a partir de las secreciones faríngeas o de las heces, inoculando el producto en cultivos celulares infectados con adenovirus, que se identifican por IF o FC, y también por la demostración de anticuerpos por reacciones de FC, NT o IF.

BIBLIOGRAFIA

Chanock, R. M.: Impact of adenoviruses on human disease. Prev. Med., 3, 466-73, 1974.
Fox, J. P.; Hall, C. E., y Coowey, M. K.: The Seattle Virus Watch 7. Observations on adenovirus infections. Am. J. Epidemiol., 105, 362-368, 1977.
Hierholzer, J. C., y Pumarola, A.: Antigenic characterizacion of intermediate adenovirus 4-11 strains associated wich upper respiratory illness in a military camp. Infect. Inmun., 13, 354-359, 1976.
Hoggan, M. D.: Adenovirus associated viruses. En Melnick, J. (dir.): Progress in Medical Virology, vol. 12. Karger, Basel, 1970.
Knight, V., y Kasel, J. A.: Adenoviruses. En Knight, V. (dir.): Viral and mycoplasmal infections of the respiratory tract. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973.
Norrby, E.; Bartha A.; Boulanger, P., y cols.: Adenoviridae. Intervirology, 7, 117-124, 1976.

Capítulo 58

Picornavirus

Agustín Pumarola

CONCEPTO Y CLASIFICACION

La familia *Picornaviridae* está constituida por virus de pequeño tamaño, que contienen ácido ribonucleico (picornavirus).

El virión tiene forma esférica, con un diámetro de 22-30 nm, y está constituido por un cápside de simetría icosaédrica, compuesto por 60 unidades proteicas, cada una de las cuales está formada por cuatro polipéptidos (VP1-4). Contiene un *genoma* compuesto por una cadena de ácido ribonucleico con polaridad positiva, asociado con una proteína de menor tamaño (Vg) y que se comporta como ARN mensajero y presenta carácter infeccioso. Se caracteriza, además, por su resistencia al éter, por no presentar un antígeno común de grupo y porque todo el proceso de replicación y maduración se realiza en el citoplasma de la célula.

Según su estabilidad en medio ácido, densidad de flotación en cloruro de cesio y temperatura óptima de crecimiento, se han dividido en 4 géneros: *Enterovirus*, *Rhinovirus*, *Cardiovirus* y *Aphtovirus* (tabla 58-1).

Tabla 58-1. Picornaviridae. Características diferenciales de los géneros

Género	Estabilidad a pH 3	Densidad en ClCs (g/cm³)	Temperatura óptima de crecimiento
Enterovirus	+	1,33-1,35	37 °C
Rhinovirus	–	1,38-1,41	33 °C
Cardiovirus	+	1,34	37 °C
Aphtovirus	–	1,43-1,45	37 °C

Los dos primeros, que son los más importantes para el hombre, se diferencian, además, por su hábitat prevalente. Mientras que los enterovirus se multiplican en el tubo digestivo y se eliminan por las heces, los rinovirus se desarrollan en la mucosa nasal y se eliminan por vía respiratoria. Comprenden numerosos virus patógenos para el hombre y los animales que producen infecciones muy frecuentes y cuadros clínicos de gravedad diversa. El virus de la hepatitis A se incluye en el género *Enterovirus*.

Los *Cardiovirus* y *Aphtovirus* afectan fundamentalmente a los animales. Los roedores constituyen el reservorio natural de los cardiovirus (virus EMC, Mengo), que producen infecciones en otras especies caracterizadas por afectación del SNC, miocarditis, o ambas. Se han aislado rara vez de las heces del hombre, y se han descrito cuadros febriles con manifestaciones neurológicas. Los aftovirus producen la fiebre aftosa de los bóvidos (glosopeda), de gran importancia por su frecuencia y las pérdidas económicas que ocasiona.

En relación con los picornavirus, se encuentra la familia *Caliciviridae* constituida por virus de mayor tamaño (35-40 nm), caracterizados por la presencia en el cápside de 32 depresiones, en forma de copa con simetría icosaédrica, y que se inactivan a pH 3-5. Son virus patógenos para los animales (cerdos, gatos e insectos); sin embargo, recientemente se han descrito estructuras semejantes en las heces de niños afectos de procesos diarreicos, que hasta el presente no se han podido cultivar (cap. 59).

Enterovirus

Constituyen un amplio grupo de virus que afectan al hombre y a los animales cuyo descubrimiento se encuentra relacionado con las investigaciones efectuadas para conocer la etiología de la poliomielitis.

A comienzos de siglo (1909) se demuestra en el SNC de personas fallecidas de poliomielitis la presencia de virus patógenos para el mono. En 1947, de las heces de niños afectos de poliomielitis en la localidad de Coxsackie (Nueva York) se aíslan virus que sólo eran patógenos para el ratón lactante.

Posteriormente, a partir de la difusión de las técnicas de cultivo celular, se aíslan de las heces de enfermos de poliomielitis y también de personas sanas virus muy semejantes a los anteriores, pero desprovistos de acción patógena para los animales de laboratorio, que se denominan virus Echo, iniciales de las palabras *Enteric, Citopathic, Human* y *Orphan*, que señalan sus principales características, a saber, que se aíslan del tubo digestivo, presentan acción citopática en los cultivos celulares, son parásitos humanos y no se conoce bien la enfermedad que producen.

Tabla 58-2. Clasificación del género Enterovirus

Especies	Número de serotipos		
	Hasta 1969	En la actualidad	
Poliovirus	3	1-3	3
Virus Coxsackie A	24	1-22 y 24	23
Virus Coxsackie B	6	1-6	6
Virus Echo	34	1-9, 11-27 y 29-33	31
Enterovirus	–	68-72	5

En consecuencia, el género *Enterovirus*, atendiendo al poder patógeno para los animales de experimentación (mono y ratón lactante), características antigénicas y enfermedades que produce, se ha dividido históricamente en 3 especies (poliovirus, virus Coxsackie y virus Echo), pero además los virus Coxsackie, según la sintomatología y lesiones que ocasionan en el ratón lactante, se han subdividido en dos grupos, A y B. Mientras que el virus Coxsackie A produce parálisis fláccidas, que se caracterizan histológicamente por una miositis generalizada sin lesiones en otros órganos, el virus Coxsackie B ocasiona parálisis espásticas, con miositis y lesiones necróticas en el SNC y otros tejidos (miocardio, páncreas, hígado, grasa interescapular). De esta manera han quedado constituidas 4 especies (poliovirus, virus Coxsackie A, virus Coxsackie B y virus Echo), que incluyen 67 serotipos.

Sin embargo, estudios posteriores han permitido demostrar que algunas de las propiedades que se consideraban características de cada especie podían ser compartidas por virus de las demás especies, como la apatogenicidad, la acción patógena para el ratón lactante y el poder neuroparalítico, lo que, si bien ha justificado su inclusión en el género *Enterovirus*, ha dificultado su clasificación en especies, sobre todo entre los virus Coxsackie y Echo, pues algunas cepas presentan caracteres intermedios y se han clasificado erróneamente en el pasado*. Por este motivo se ha llegado al acuerdo de conservar esta clasificación para los 67 serotipos descritos hasta 1969, que han quedado reducidos a 62, pero unificando los virus aislados a partir de esta fecha con la denominación de enterovirus seguido de un número: se han descrito hasta el presente cuatro nuevos virus (enterovirus 68-71) e incluido el virus de la hepatitis A como enterovirus 72. En la actualidad, la clasificación de los enterovirus y su distribución en serotipos se refleja en la tabla 58-2.

CARACTERISTICAS GENERALES

Acción de los agentes externos

Los enterovirus presentan cierta resistencia a las condiciones ambientales. Se inactivan por las radiaciones, la desecación y el calor a 50-55 °C durante media hora, pero, si se añade al medio cloruro magnésico a concentración molar, resisten temperaturas de 50 °C durante 1 hora (estabilización catiónica de la inactivación térmica), método que se utiliza para conservar la infecciosidad de las vacunas atenuadas de la poliomielitis y aumentar su período de validez. Se inactivan por el cloro, formol y β-propiolactona, pero, en presencia de materia orgánica, precisan concentraciones más elevadas de cloro, de ahí que los enterovirus resistan a las dosis que normalmente se utilizan para la depuración de las aguas. Resisten al éter, los pH ácidos, los fermentos proteolíticos y las sales biliares, lo que explica su estabilidad en el tubo digestivo.

Cultivos

Todos los enterovirus, a excepción de algunos virus Coxsackie A, se desarrollan en cultivos de células de mono o humanas produciendo una acción citopática muy característica. Por examen en fresco se observa que las células de los cultivos se hacen redondas y más refringentes, muestran el núcleo picnótico y se despegan del vidrio del tubo o matraz produciendo la destrucción del cultivo celular (fig. 58-1), fenómeno que ocurre con diferente rapidez y extensión según los virus. Por examen de preparaciones coloreadas se observa la aparición, en el citoplasma de la célula, de una masa eosinófila yuxtanuclear, que aumenta de tamaño pro-

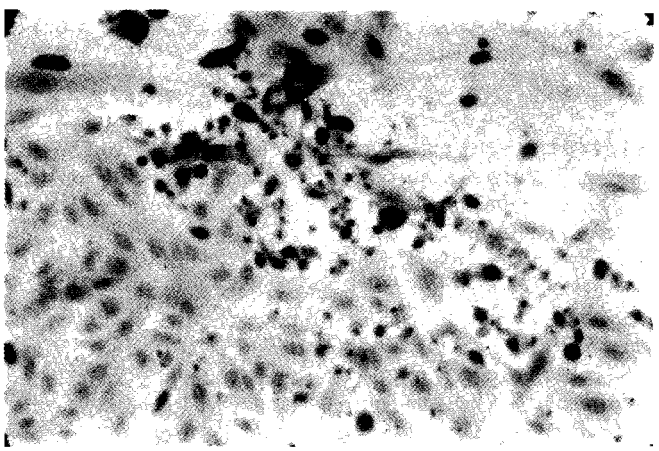


Fig. 58-1. Acción citopática de poliovirus tipo 1 en células de riñón de mono (× 100). Aspecto del cultivo con células redondeadas, picnóticas y más refringentes.

Fig. 58-2. Acción citopática de poliovirus tipo 1 en células de riñón de mono (× 1.000). Fase inicial. Inclusiones citoplásmicas eosinófilas.

*El virus Coxsackie A 23 se ha identificado con el virus Echo 9; los virus Echo 1 y 8 son idénticos; el virus Echo 10 se ha clasificado como reovirus 1; el virus Echo 28, como rinovirus 1 A, y el virus Echo 34, como Coxsackie A 24.

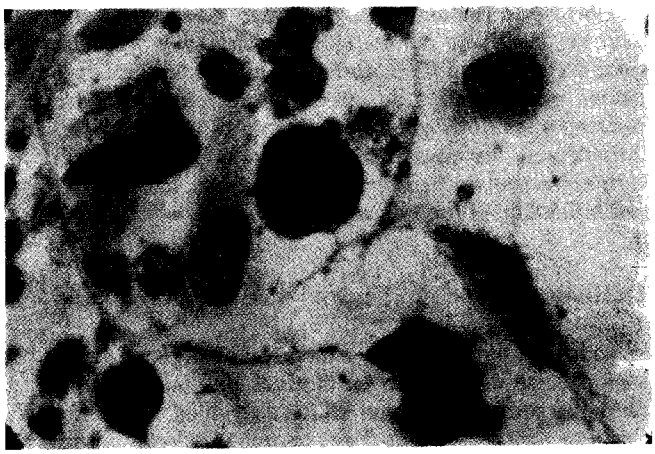


Fig. 58-3. Acción citopática de poliovirus tipo 1 en células de riñón de mono (× 1.000). Fase avanzada. Necrosis celular.

gresivamente (fig. 58-2), rechaza el núcleo a la periferia, hasta que se produce la necrosis de la célula (fig. 58-3). Por microscopia electrónica se observa que esta masa está constituida por numerosos viriones que adoptan una disposición cristalina.

Antígenos

Los enterovirus no presentan un antígeno común. Se distinguen 2 antígenos que corresponden a 2 tipos de partículas. En las partículas completas del virus se encuentra el antígeno D (denso) o N (nativo), que inducen la aparición de anticuerpos tipoespecíficos, los cuales permiten diferenciar los distintos serotipos de enterovirus, especialmente por reacciones de neutralización. En las partículas vacías o cápsides sin ácido nucleico se manifiesta el antígeno C (*coreless*) menos específico, que presenta frecuentes reacciones cruzadas y se demuestra por reacciones de fijación del complemento. Por calentamiento a 50 °C, el antígeno D se convierte en C. Se considera debido a cambios en la estructura molecular del virión probablemente por pérdida del polipéptido VP4 y el ácido nucleico.

Patogenia

Ingresan por vía digestiva y se localizan en la faringe y en el intestino delgado distal (íleon). No se conoce con certeza si se desarrollan en las células de la mucosa, pero se sabe que en las formaciones linfáticas de la submucosa (amígdalas, placas de Peyer) sufren una activa replicación. Más tarde pasan a los ganglios linfáticos regionales y probablemente por vía sanguínea (viremia transitoria) llegan a diversos órganos del SRE (hígado, bazo, medula ósea), donde después de un período de multiplicación difunden a la sangre (fase de viremia persistente), y pueden localizarse en los tejidos u órganos para los que tienen tropismo, como meninges, sistema nervioso, músculos estriados, miocardio, mucosa respiratoria y piel, donde producen lesiones inflamatorias con necrosis de las células (fig. 58-4). La difusión al SNC también puede realizarse por vía nerviosa. El virus se encuentra en la primera semana en la faringe y durante varias semanas se elimina por las heces.

La mayoría de infecciones por enterovirus son inaparentes o subclínicas; el virus se detiene en la fase de replicación intestinal o en las formaciones y órganos del SRE, con eliminación del virus por las heces, y aun a veces puede llegar a la fase de viremia produciendo un cuadro clínico menor, pero sólo en un reducido número de casos (1 × 100) se localiza en los tejidos y órganos susceptibles, dando lugar a cuadros clínicos diversos. Los poliovirus afectan por lo general el sistema nervioso, los virus Coxsackie B, los músculos torácicos y el miocardio y algunos virus Coxsackie A y los virus Echo se localizan en la piel e incluso en las vías respiratorias.

POLIOVIRUS

Son enterovirus patógenos para los primates, que se desarrollan en cultivos de diversos tipos de células de mono y humanas (células primarias, células diploides y células de línea continua) y producen alteraciones citopáticas rápidas y completas. Presentan un antígeno termolábil tipoespecífico D, que por pruebas de seroneutralización ha permitido dividir los poliovirus en tres serotipos (tipos 1, 2 y 3), aunque existe cierta relación antigénica entre los tipos 1 y 2 y menor entre los tipos 2 y 3. En las suspensiones calentadas se manifiesta el antígeno C, que por reacciones de fijación del complemento produce frecuentes reacciones cruzadas sobre todo en las personas que han sufrido infecciones por más de un serotipo.

Los poliovirus son parásitos exclusivos del hombre. Pueden afectar las neuronas del asta anterior de la medula espinal y de la sustancia gris del cerebro, y producir diversas alteraciones (cromatólisis, neuronofagia), que conducen a la destrucción y necrosis celular. La neurovirulencia de los poliovirus y, por tanto, su capacidad de producir parálisis

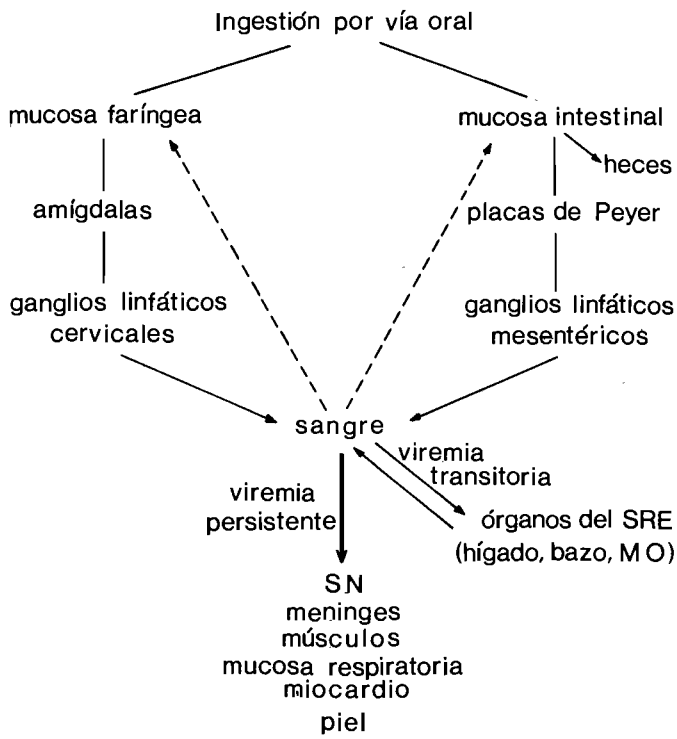


Fig. 58-4. Patogenia de las infecciones por enterovirus.

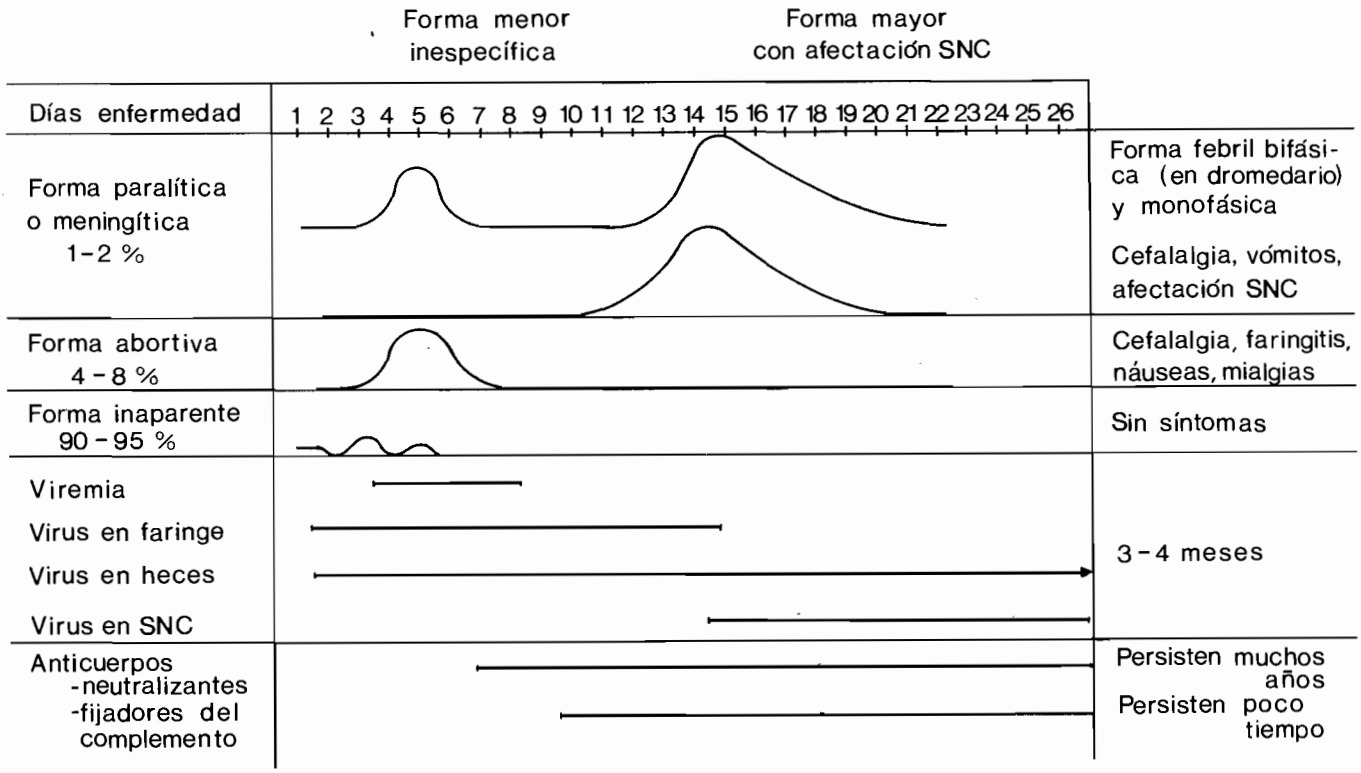


Fig. 58-5. Infección por poliovirus. Características de las diversas formas clínicas.

varían ampliamente. Por pases en huevo embrionado y cultivos celulares se han aislado mutantes atenuadas, que se han utilizado para preparar vacunas; son cepas de muy escasa neurovirulencia, que sólo producen parálisis cuando se inoculan a dosis elevadas por vía intrarraquídea al mono (*M. rhesus* y *M. cynomolgus*).

Acción patógena

Producen en su mayoría infecciones inaparentes (90-95 %). Cuando la infección va seguida de enfermedad, ésta aparece después de un período de incubación de 5-15 días por término medio y puede presentar diversas formas clínicas (fig. 58-5):

Formas menores (poliomielitis abortiva)

Es un cuadro leve de 1-2 días de duración, que se presenta en el 4-8 % de casos y se caracteriza por síntomas diversos: fiebre, cefalalgia, malestar, anginas, náuseas, vómitos, constipación o diarrea, y dolores musculares, que aparecen en combinaciones diversas. El cuadro pasa por lo general inadvertido y sólo se sospecha en época epidémica.

Forma meningítica (poliomielitis no paralítica)

Aparece en el 1 % de casos, con el cuadro de la meningitis aséptica o no purulenta, con fiebre, cefalalgia, dolores musculares y rigidez de nuca, asociado con modificaciones del líquido cefalorraquídeo, que es claro e hipertenso, y presenta pleocitosis linfocítica, aumento de albúmina y globulinas, cifras normales o ligeramente aumentadas de glucosa y ausencia de bacterias. Tiene una duración de 5-10 días y por lo general va seguida de restablecimiento total; no se diferencia de la meningitis producida por virus Coxsackie y Echo.

Forma paralítica (poliomielitis paralítica)

Se presenta en el 0,1 % de casos y se caracteriza en que, después de una forma menor, que coincide con el período de viremia, y a los 2-3 días de la remisión de los síntomas o al comienzo de un proceso febril, aparecen bruscamente dolores musculares, signos de meningismo y parálisis flácidas con hipotonía e hiporreflexia, de distribución focal asimétrica, que pueden afectar cualquier grupo muscular (forma espinal) (fig. 58-6). Las parálisis regresan parcialmente, y puede persistir una fase crónica residual de atrofias musculares y deformidades óseas, que plantean problemas importantes de rehabilitación.

A veces puede adoptar una forma respiratoria por afectación de los músculos torácicos o de los pares craneales y centro respiratorio; es la forma bulbar ascendente, muy grave, y que se presenta en el 5-20 % de formas paralíticas, especialmente en adultos.

El porqué en unos casos se produce una infección inaparente y en otros aparece la enfermedad no se conoce con certeza, pero puede ser debido a factores dependientes del virus (número, virulencia, infecciones dobles) o a la presencia de factores de riesgo en el huésped, que predisponen a las parálisis (edad, embarazo, fatiga física, inyección de sustancias irritantes, amigdalectomía, administración de corti-

Fig. 58-6. Niño con poliomielitis paralítica. Paraplejía fláccida. Actitud hipotónica. (Por cortesía de M. Cruz Hernández, Hospital Clínico y Provincial, Barcelona.)

coides y fármacos inmunodepresores, inmunodeficiencias naturales).

Se ha observado que las parálisis se presentan con mayor frecuencia y gravedad en los adultos que en los niños y que la inyección de sustancias irritantes predispone a su aparición en el miembro inyectado y la amigdalectomía, a formas bulbares, probablemente porque facilita la difusión del virus por vía nerviosa. También son mucho más frecuentes en los niños afectos de inmunodeficiencias naturales y adquiridas, y se ha demostrado la existencia de factores genéticos asociados a su presentación, en especial los factores de histocompatibilidad HLA3 y HLA7.

En la era prevacunal, el 85 % de parálisis persistentes eran producidas por poliovirus e intervenían en pequeña proporción los virus Coxsackie A y B, Echo y los de la parotiditis y del herpes. En la actualidad, con una elevada cobertura vacunal, sólo en el 10-20 % de formas paralíticas en vacunados se puede demostrar una infección por poliovirus.

Diagnóstico

Se puede efectuar por aislamiento del virus o serología.

Aislamiento

Se parte generalmente de una muestra de heces, obtenida durante el primer mes, y también de secreciones faríngeas cuando se pueden obtener durante la primera semana, pero no del LCR donde se aísla rara vez. La muestra se puede conservar algunos días en la nevera y por congelación a −30 °C durante mucho tiempo. Se inocula en cultivos celulares (células KB, Hep-2, riñón de mono), donde a los 2-3 días produce las típicas alteraciones citopáticas que afectan toda la monocapa de cultivo celular. El virus aislado se identifica por pruebas de neutralización con sueros de referencia frente a los tres tipos de poliovirus.

La proporción de resultados positivos aumenta con la precocidad de la toma de muestras (80 % en los primeros 15 días), con la forma clínica (60 % en las formas paralíticas) y practicando varias pruebas, ya que la eliminación del virus puede ser intermitente.

El empleo generalizado de vacunas vivas y la difusión de los virus atenuados en la naturaleza han hecho sentir la necesidad, cuando se aísla un poliovirus de un enfermo, de diferenciar si se trata de una cepa natural o atenuada. Para ello se pueden emplear las pruebas de diferenciación intratípicas que determinan caracteres, «marcadores» físicoquímicos o antigénicos, específicos de estas cepas. Sin embargo, la identificación de las cepas atenuadas no siempre es fácil de establecer, porque en el curso de su replicación en el tubo digestivo pueden haber sufrido mutaciones y presentar caracteres intermedios difíciles de definir. Por esto, estas pruebas se emplean sólo en casos especiales, sobre todo para dilucidar los casos de parálisis asociados con la vacunación, y debe tenerse en cuenta que el aislamiento de una cepa atenuada de las heces de un enfermo con parálisis, aun siendo muy importante, no suministra la certeza total, a no ser que se aísle del SN.

Serología

Los métodos serológicos en el diagnóstico de la poliomielitis tienen un valor limitado, pues por lo general el título de anticuerpos se encuentra ya elevado en el momento de detectarse los primeros síntomas y es difícil demostrar una seroconversión o un aumento significativo del título de anticuerpos en dos muestras de suero del enfermo. Se utilizan reacciones de seroneutralización (RN) o de fijación del complemento (RFC).

La RFC con antígeno calentado (antígeno C) es grupoespecífica. Si se emplea como antígeno una suspensión de virus activo (antígeno D), la reacción puede determinar el tipo de virus cuando se trata de una primoinfección, pues las reinfecciones producen reacciones cruzadas entre los tres tipos. Por otra parte, como los anticuerpos fijadores del complemento desaparecen al poco tiempo, cuando se obtiene una muestra de suero durante la convalecencia y se detecta un título elevado de anticuerpos, esto constituye una fuerte presunción diagnóstica.

La RN es más específica y permite el diagnóstico de tipo, pero difícilmente detecta un aumento del título entre dos muestras de suero. Por otra parte, como los anticuerpos persisten a títulos bajos durante muchos años, es la reacción que se utiliza para determinar el grado de inmunidad de la población.

Interpretación

Los resultados de las pruebas de laboratorio, considerados aisladamente, por lo general son poco demostrativos. Hay que tener en cuenta que incluso el aislamiento de poliovirus en las heces de un enfermo, que es uno de los datos más significativos, dada la difusión de los poliovirus en la naturaleza, no indica necesariamente que sea el agente causal de la enfermedad y la demostración de una seroconver-

sión frente al mismo serotipo no siempre proporciona el diagnóstico de certeza, ya que puede tratarse de una infección subclínica simultánea. Sólo la consideración conjunta de los datos de laboratorio con el estudio clínico y epidemiológico del caso, descartando cualquier otra etiología, permite llegar al diagnóstico.

Inmunidad

Como consecuencia de la infección o de la enfermedad se produce un aumento inmediato y transitorio de la inmunidad local intestinal (IgA, interferón). Más tarde aparecen anticuerpos séricos (IgM, IgG), que neutralizan el virus durante la fase de viremia e impiden su localización en el SN, pero no afectan el virus cuando se encuentra en los lugares de replicación (ganglios linfáticos, hígado, bazo). La inmunidad es tipoespecífica y de larga duración. En el recién nacido, los anticuerpos transmitidos a través de la placenta (IgG) y por la lactancia materna (IgA secretoras) le protegen al menos durante 6 meses.

Tratamiento

No existe tratamiento específico. El suero de convaleciente y la inmunoglobulina específica no modifican el cuadro, una vez que se ha iniciado la enfermedad.

Epidemiología

Los poliovirus producen infecciones muy frecuentes de distribución mundial, que aparecen durante todo el año en los países tropicales, pero en los países templados presentan una distribución estío-otoñal.

El hombre es el reservorio de la infección, en especial los menores de 5 años que sufren infecciones inaparentes o aparentes y eliminan el virus durante un período variable.

La transmisión se efectúa principalmente por la vía fecal-oral, por contacto directo o indirecto (manos sucias, alimentos y utensilios recientemente contaminados) y menos veces por un vehículo común.

Todas las edades son receptivas, pero, debido a la difusión del virus en la naturaleza, la primoinfección se produce en la edad infantil. En los países en vías de desarrollo, la mayoría de infecciones son subclínicas pues se producen poco después del nacimiento, cuando existe inmunidad pasiva, y los casos se presentan en los menores de 5 años, mientras que, en los países con una sanidad ambiental desarrollada, que dificulta la difusión del virus, la primoinfección se retrasa a los grupos de 5-10 años, 10-15 años y adultos jóvenes. Este cambio en la distribución por edades ha ido acompañado de un aumento de la gravedad, y la enfermedad ha perdido su carácter de enfermedad infantil.

La infección difunde por cadena de infección y da lugar a brotes epidémicos, constituidos en su mayoría por infecciones inaparentes y escasa proporción de formas paralíticas, de ahí que los casos se presenten muchas veces aislados «a saltos», sin conexión en el espacio ni en el tiempo. La infección difunde rápidamente en el medio familiar y con mayor frecuencia en los sectores de población en condiciones sanitarias y económico-sociales deficitarias. De 1900 a 1958 se produjeron en Europa, Norteamérica y Australia importantes epidemias de poliomielitis con tasas de ataque del 5-10 por 100.000, que han desaparecido a consecuencia de las campañas de vacunación. En la actualidad existe una situación epidémica semejante en algunos países africanos y asiáticos.

Profilaxis. Vacunas

La vacunación es la medida fundamental de profilaxis. Existen dos tipos de vacuna, la vacuna inactivada tipo Salk y la vacuna atenuada tipo Sabin.

La vacunación contra la poliomielitis se inició, en 1955, con la vacuna inactivada, cuyo empleo se extendió en Norteamérica, Australia y la mayoría de países de Europa. En 1958-60 apareció la vacuna oral con virus atenuado, que inicialmente se empleó en campañas de vacunación masiva en Rusia y países del Este de Europa con tanto éxito que su uso se difundió a la mayoría de países, lo que ha provocado que, en el momento actual, en las campañas de vacunación infantil se utilice casi exclusivamente esta vacuna.

Vacuna atenuada tipo Sabin

Por pases en cultivos tisulares se han obtenido mutantes de neurovirulencia atenuada. La vacuna consiste en una suspensión de los tres tipos de poliovirus atenuados desarrollados en células diploides (cepa WI-38), a una concentración adecuada ($1–3 \times 10^5$ DITC 50 como mínimo), que permita su replicación en el organismo del vacunado cuando se administra por vía oral.

La vacuna es muy eficaz, pues los virus se multiplican en la mucosa intestinal y difunden por vía hemática produciendo una doble respuesta: a nivel local con la producción de anticuerpos en la mucosa (IgA secretora) que evitan el establecimiento del virus y, por tanto, la infección, y a nivel general con anticuerpos séricos (IgM, IgG) que neutralizan el virus a su paso por la sangre y evitan la aparición de la enfermedad. En consecuencia, se produce una inmunidad intensa y de larga duración, que no precisa, en principio, la administración de dosis regulares de recuerdo. Por otra parte, como la inmunidad intestinal es de rápida instauración, interrumpe la transmisión de los virus virulentos en la naturaleza, lo que representa su sustitución por virus atenuados y la posibilidad de ser utilizada en el control de los brotes epidémicos en la población, sobre todo cuando se conoce el serotipo causal de la epidemia.

Además, presenta la ventaja de ser una vacuna poco concentrada, de coste reducido y de administración oral, lo que representa una gran facilidad de aplicación, especialmente en los programas de vacunación sistemática de la infancia.

Los dos problemas que presenta la vacuna atenuada son:

1. *Aparición de casos de parálisis asociados a la vacuna.* Se producen muy rara vez (1 vacunado por 8 millones de dosis y un contacto con vacunados por 5 millones de dosis). Aunque es muy difícil asegurar la certeza de esta asociación, se ha señalado que cierto número de casos pudieran ser debidos al virus, a que en la progenie de los virus atenuados en el laboratorio se hubieran producido mutaciones inversas, con cierto grado de reversión a la virulencia, que sólo han podido demostrarse por métodos estadísticos para

el tipo 3 (cepa Leon), lo que ha sugerido la conveniencia de reemplazarla por otras mutantes del mismo tipo más estables y de mayor poder inmunógeno. Por otra parte, también se ha señalado la posibilidad teórica de que en el curso de la replicación de los virus atenuados en los vacunados y contactos se pudieran producir mutantes menos atenuadas, lo que ha sido difícil de comprobar. Sin embargo, lo que sí se ha demostrado es que algunos casos dependen fundamentalmente de condiciones del huésped, pues se ha observado que los adultos y gestantes presentan una mayor sensibilidad a los poliovirus, y existe un grupo especial de niños con riesgo elevado de padecer parálisis por el virus atenuado de la vacuna, cuando presentan deficiencias inmunitarias primarias o secundarias.

2. *La vacuna no prende y no se produce la inmunización.* Puede ocurrir:

a) Por mala conservación de la vacuna. Debe conservarse en el frigorífico con un plazo de validez de 10 meses cuando contiene Cl_2Mg como estabilizador. Por el contrario, a temperatura ambiente (25 °C) se conserva menos de 6 días. El transporte debe efectuarse en condiciones de refrigeración.

b) Por la presencia de factores que neutralizan el virus (sustancias inhibidoras de la saliva, anticuerpos en los casos de lactancia materna) o impiden su fijación y replicación en las células de la mucosa intestinal (factores de inmunidad celular, déficit proteicos, alteraciones digestivas), y sobre todo por fenómenos de interferencia como consecuencia de infecciones por otros enterovirus tan frecuentes en la infancia, que ocurren durante todo el año en los países tropicales y en verano-otoño en los países de clima templado. Se ha solucionado administrando varias dosis de vacuna o iniciando la vacunación con vacuna inactivada.

Contraindicaciones. La vacuna está contraindicada cuando existen factores de riesgo (edad adulta, gestación, inmunodeficiencias naturales o adquiridas) o está dificultada la fijación y replicación del virus (lactancia materna, diarreas).

Indicaciones. Se recomienda la vacunación sistemática de la población infantil a los 3 meses de edad en forma de 3 dosis de vacuna trivalente administradas por vía oral, separadas por 2 meses de intervalo, una dosis de refuerzo al cabo de 1 año (18 meses) y una dosis de recuerdo a la entrada en la escuela (4-6 años). También se recomienda una dosis a los 11-12 años que refuerce la inmunidad del adolescente y adulto.

El empleo de esta vacuna en campañas de vacunación sistemática y su incorporación a los programas de vacunación infantil han logrado una disminución espectacular de la morbilidad y mortalidad por poliomielitis, la cual ha dejado de constituir un problema sanitario. Sin embargo, es muy difícil llegar a la erradicación de la enfermedad por la existencia de grupos de población no vacunada y de cepas virulentas importadas.

Vacuna inactivada tipo Salk

Se prepara con suspensiones de los tres tipos de poliovirus inactivados por calor y formol. Es una vacuna más concentrada ($1\text{-}3 \times 10^7$ DITC 50) y, por tanto, de mayor coste, que se administra por vía parenteral.

Es inocua e induce la aparición de anticuerpos séricos, que neutralizan el virus en la fase de viremia, evitan la aparición de la enfermedad y producen una inmunidad que persiste durante 6 años como mínimo.

El empleo de esta vacuna se ha traducido en una gran disminución del número de formas paralíticas. Aun cuando no produce inmunidad intestinal y, por tanto, no interrumpe la transmisión por virus virulentos, se ha observado que, si se aplican programas de vacunación que cubran a la totalidad de la población en países dotados de buenos servicios sanitarios, se puede llegar a la erradicación de la enfermedad (Suecia, Finlandia).

Se emplea fundamentalmente en los casos de contraindicación de la vacuna viva con el mismo tipo de dosis e intervalos, y hay que tener en cuenta que la respuesta inmunitaria antes de los 6 meses es menor debido a la presencia de anticuerpos maternos y proceder a la administración en forma periódica de dosis de recuerdo cada 6 años.

VIRUS COXSACKIE, VIRUS ECHO Y ENTEROVIRUS 68-71

Son enterovirus por lo general no patógenos para los monos, que se desarrollan en cultivos celulares o son inoculables al ratón lactante. Los virus Coxsackie B, virus Echo y enterovirus 68-71 se cultivan en células de riñón de mono y producen alteraciones citopáticas típicas, de desarrollo lento e incompleto. Los virus Coxsackie A se cultivan en su mayoría en células diploides y algunos, en células de riñón de mono; sólo unos pocos no se desarrollan en cultivos celulares, y es necesaria la inoculación al ratón lactante.

Por otra parte, algunos virus Echo y Coxsackie presentan la propiedad de aglutinar los hematíes humanos del grupo O, debido a la existencia de una hemaglutinina asociada al virión, que produce la destrucción del receptor celular del hematíe. Se conoce la existencia de 63 serotipos, que se diferencian por reacciones de seroneutralización.

Cuadros clínicos

Las manifestaciones clínicas pueden dividirse en cuadros comunes, que pueden ser producidos por cualquiera de estas especies, y cuadros específicos, cuando interviene con mayor frecuencia una especie determinada (tabla 58-3). Los virus Echo, que inicialmente se denominaron virus huérfanos (*orphanvirus*) por desconocerse su acción patógena, con el tiempo se han ido relacionando con cuadros clínicos diversos y han perdido este calificativo.

Cuadros comunes

Los enterovirus, incluidos los poliovirus, producen en su mayoría infecciones inaparentes. Entre los cuadros clínicos comunes se encuentran: *a)* Las *formas menores.* Son cuadros febriles con pequeños síntomas respiratorios o digestivos que se presentan en verano y otoño, muchas veces en forma epidémica. *b)* Las formas de *meningitis aséptica,* que no pueden diferenciarse de las producidas por poliovirus. *c)* Las *formas paralíticas,* que se caracterizan por ser menos extensas y presentar una tendencia a la regresión total (virus

Tabla 58-3. Cuadros clínicos producidos por los enterovirus

	Poliovirus	Virus Coxsackie A	Virus Coxsackie B	Virus Echo	Enterovirus 68-71
Formas febriles	+	+	+	+	
Formas meningíticas	+	+	+	+	+ (71)
Formas paralíticas y encefalíticas	+	±	±	±	+ (71)
Formas febriles con exantema	–	+	+	+	+ (71)
Infecciones respiratorias agudas	±	+	+	+	+ (68)
Herpangina	–	+	–	–	
Faringitis linfonodular	–	+ (10)	–	–	
Mialgia epidémica	–	–	+	–	
Encefalomiocarditis del recién nacido	–	–	+	±	
Miopericarditis en niños y adultos	±	±	+	±	
Enteritis	–	–	–	+	
Conjuntivitis aguda hemorrágica	–	+ (24)	–	–	+ (70)

Coxsackie A7, A9 y B1-6, virus Echo 2 y 4), aunque en ocasiones muestran una incidencia y gravedad elevada (enterovirus 71). *d)* También *infecciones de las vías respiratorias superiores*, en especial cuadros benignos de faringitis y de resfriado común (virus Coxsackie A21, B1 y B6, virus Echo 11, 8 y 20).

Cuadros más específicos

Virus Coxsackie A. Son los agentes causales de:

1. *Herpangina* (faringitis vesiculosa o ulcerosa), caracterizada por la presencia de pequeñas vesículas grisáceas, que rápidamente se transforman en úlceras, localizadas en la faringe, velo de paladar, pilares anteriores y amígdalas, y acompañadas de fiebre, disfagia y a veces vómitos.
2. *Faringitis linfonodular*, producida por el virus Coxsackie A10.
3. *Infecciones con exantema* de tipo vesiculoso, localizadas en las manos, pies y boca *(hand, foot and mouth disease)*, en menores de 5 años, y producidas por los virus Coxsackie A16, 5 y 9, ó de tipo maculoso o maculopapuloso (virus Coxsackie A9, 11 y 23), También conjuntivitis aguda hemorrágica producida por una variante del tipo 24.

Virus Coxsackie B. Pueden producir:

1. *Mialgia epidémica* o enfermedad de Bornholm, caracterizada por fiebre, cefalalgia y mialgias torácicas intensas, que simulan un dolor pleural (pleurodinia epidémica).
2. *Encefalomiocarditis del recién nacido*, cuadro de extrema gravedad con taquicardia, cianosis y alteraciones electrocardiográficas, con una letalidad elevada (50 %), responsable de algunos casos de muerte en la cuna, y *miopericarditis en niños mayores y adultos*, generalmente benignas, cuadros que también pueden ser producidos por algunos serotipos de virus Coxsackie y Echo.
3. También se han encontrado asociados con cuadros de *exantema*, *uremia hemolítica*, *orquitis* y *pancreatitis*, e incluso se ha sugerido su intervención en casos de *diabetes mellitus* juvenil.

Virus Echo. Se encuentran asociados con:

1. *Afecciones febriles con exantema* de tipo maculopapuloso que se localizan en la cabeza, cuello y tórax, en niños menores de 8 años, asociadas a veces con meningitis (tipo 9, 16).
2. *Diarreas infantiles*, en las que se han aislado con mayor frecuencia que en niños sanos. Se supone que algunos serotipos (11, 14, 18 y 22) pueden intervenir en algunos casos de diarrea del recién nacido, aunque en su mayoría son producidos por otros virus (rotavirus) y aun por bacterias (*E. coli* enteropatógenos y enterotoxígenos).

Enterovirus 68-71. Se han asilados de los siguientes cuadros:

1. Tipo 68, de infecciones de las vías respiratorias inferiores (bronquitis y neumonía).
2. Tipo 69, sólo de infecciones inaparentes.
3. Tipo 70, de brotes de conjuntivitis aguda hemorrágica y, en ocasiones, de afecciones respiratorias y meningitis.
4. Tipo 71, de cuadros diversos: formas paralíticas, meningoencefalitis, meningitis y exantemas maculosos o vesiculosos.
5. Tipo 72, de cuadros de hepatitis (virus de la hepatitis A) (véase cap. 66, pág. 704).

Diagnóstico

El aislamiento se puede efectuar a partir de las secreciones faríngeas, de las heces y del LCR en los casos de meningitis, así como de órganos diversos en la necropsia. El producto se inocula en células de riñón de mono, células diploides o de línea (KB o HEp^{-2}) y, además, en ratones lactantes para el aislamiento de algunos virus Coxsackie A.

La identificación puede facilitarse demostrando si el virus aislado pertenece al grupo de *virus hemaglutinantes* y procediendo a su identificación por reacciones de inhibición de la hemaglutinación o practicando reacciones de seroneutralización con sueros polivalentes (sueros polivalentes interseccionales), que permiten llegar a la identificación con un número reducido de reacciones.

Las reacciones serológicas de seroneutralización, dado el gran número de serotipos, son muy laboriosas. Si se aísla un virus del enfermo, pueden practicarse reacciones de neutralización utilizando el virus aislado como antígeno o, si se trata de un cuadro específico (miocarditis, pericarditis), limitarse a los serotipos posibles causantes del cuadro.

La interpretación de los resultados es difícil sobre todo en los niños debido a la frecuencia de infecciones inaparentes. En los adultos, la consideración conjunta de los datos

clínicos y de laboratorio, sobre todo cuando la muestra se obtiene de tejidos u órganos (LCR, líquido pericárdico, órganos en la autopsia), permite llegar al diagnóstico con certeza. En los casos de meningitis aséptica se ha intentado llegar al diagnóstico demostrando el virus en los leucocitos del LCR por técnicas de inmunofluorescencia con sueros polivalentes y también en casos de pericarditis y miocarditis por virus Coxsackie B, a partir de tejidos obtenidos en la autopsia.

Epidemiología

Es muy semejante a la de los poliovirus. Las infecciones intestinales por virus Coxsackie y Echo son muy frecuentes en los niños. En los países cálidos, la infección se transmite con rapidez y pueden aislarse virus en una proporción elevada de la población infantil (60-80 %) durante todo el año, mientras que, en los países templados, con buenas condiciones sanitarias, se detectan en una proporción menor (2-20 %) y sólo durante los meses de verano y otoño.

Se transmiten por vía oral-fecal y también por vía respiratoria (herpangina, cuadros respiratorios). Son infecciones transitorias que aparecen en forma de brotes epidémicos periódicos en la población infantil, de manera que el tipo predominante en un brote es sustituido por otros en los brotes posteriores.

Como consecuencia de las campañas de vacunación antipolio, se ha producido un aumento relativo de las infecciones por estos enterovirus.

Rinovirus

CARACTERISTICAS GENERALES

El género *Rhinovirus* está constituido por picornavirus, de 20-30 nm de diámetro, caracterizados por su sensibilidad a los ácidos, temperatura óptima de replicación de 33 °C y hábitat prevalente en la mucosa de las vías respiratorias superiores. Se incluyen los rinovirus humanos que intervienen en la etiología del resfriado común y diversos rinovirus animales.

La temperatura de replicación de los rinovirus humanos explica su desarrollo en las células de la mucosa nasal (33 °C) y que en general no produzcan infecciones generalizadas (37 °C). Son resistentes al éter y sensibles a los ácidos, conservan su infecciosidad a 50 °C, y su supervivencia en el medio ambiente es sólo de algunas horas, pero pueden conservarse en el frigorífico durante pocos días y congelados a –70 °C durante largo tiempo.

Se desarrollan en células pulmonares y renales de embrión humano, en células diploides (WI-38) y en células de riñón de mono, y algunos en cepas sensibles de línea (HeLa y KB), en condiciones semejantes a las de la mucosa nasal (temperatura de 33 °C, pH 7 y buena oxigenación por cultivo en tubos rotatorios). Producen alteraciones citopáticas parecidas a las de los enterovirus, pero más discretas y de tipo focal. Algunos rinovirus sólo se desarrollan en cultivos de órganos (epitelio nasal y traqueal embrionario).

Presentan un antígeno de superficie tipoespecífico, que por pruebas de seroneutralización ha permitido clasificarlos en 113 serotipos, pero con toda probabilidad existen más. Aunque no hay un antígeno de grupo común, se ha demostrado la existencia de grupos relacionados antigénicamente. Parece que hay cepas estables y cepas variables, que pueden presentar fenómenos de variación antigénica, pero, a diferencia del virus gripal, las variantes no se sustituirían, de manera que en un momento determinado existirían diversos serotipos en circulación. También se ha demostrado que algunas cepas aglutinan los hematíes de cordero a 4 °C.

ACCION PATOGENA

El virus se replica en las células de la mucosa nasal produciendo fenómenos inflamatorios, con edema, infiltración celular, secreción y descamación de las células superficiales de la mucosa.

Resfriado común. Es el agente causal del 30-40 % de casos de resfriado común. Después de un período de incubación de 2-4 días, aparecen manifestaciones locales, caracterizadas por estornudos, cefalalgia, malestar, rinorrea acuosa con obstrucción nasal, dolor en la garganta y tos, cuadro que dura 4-6 días sin fiebre o con febrícula. Hay que tener en cuenta que el resfriado común es un síndrome que puede ser producido por muchos otros virus (virus de la gripe, parainfluenza, respiratorio sincitial, Coxsackie y Echo, coronavirus, adenovirus y reovirus).

Aunque la infección es leve, el virus puede producir en los niños *sinusitis y otitis agudas*, que posteriormente son asiento de infecciones bacterianas secundarias. Por otra parte, en los adultos es la causa de *reactivación de infecciones crónicas* (sinusitis, bronquitis, asma).

La inmunidad es tipoespecífica y va ligada a la presencia de anticuerpos en la mucosa (IgA), a la que protegen durante 1-2 años.

Después de la infección se produce un estado de resistencia de corta duración a todos los virus, probablemente debido a la producción de interferón.

DIAGNOSTICO

Es fundamentalmente clínico. Solamente se recurre al laboratorio en casos especiales para dilucidar problemas etiológicos.

El aislamiento se efectúa a partir de secreciones nasales obtenidas durante los 3 primeros días de enfermedad, que se inoculan en células de origen humano (primarias, diploides, sensibles de línea) y de riñón de mono (cepas M), en las cuales se observan las típicas alteraciones citopáticas focales con producción de microplacas de destrucción celular, o en cultivos de órganos, del epitelio nasal y bronquial, donde se puede demostrar su desarrollo por inhibición de la función ciliar. La identificación se efectúa mediante su resistencia al éter, labilidad a los ácidos y pruebas de seroneutralización en presencia de sueros polivalentes intersecccionales.

El diagnóstico serológico no se practica como método de rutina; sólo cuando se aísla un virus del enfermo, se puede utilizar como antígeno, en reacciones de seroneutralización o de reducción de placas.

EPIDEMIOLOGIA

El reservorio es el hombre y está constituido especialmente por los escolares que introducen la infección en el medio familiar. Se transmite por contacto directo a través de las secreciones nasales y conjuntivales, y menos veces por la saliva; se caracteriza por su contagiosidad y poder de difusión.

Su aparición durante los meses fríos del año ha sugerido que existiría una relación etiológica con el frío y la humedad. Sin embargo, las investigaciones efectuadas en voluntarios han demostrado que sometiéndolos a diferentes condiciones de temperatura y humedad se presentan resfriados con la misma frecuencia que en el grupo control. Su relación sería debida a que en estas épocas como consecuencia del hacinamiento se facilita la transmisión.

Los resfriados por rinovirus se observan con mayor frecuencia a comienzos de primavera y de otoño. Debido a la existencia de numerosos serotipos que no presentan inmunidad cruzada, pueden producirse varias infecciones al año, y a este respecto es la infección más frecuente y la causa del 50 % del absentismo escolar y laboral.

PROFILAXIS. VACUNA

Para ser eficaz, la vacuna debería contener los serotipos en circulación y estimular la producción de anticuerpos locales, que son los protectores. La multiplicidad de serotipos, las variaciones que experimentan y la dificultad de obtener suspensiones de elevado título explican las dificultades encontradas en su preparación. Sin embargo, la existencia de grupos compuestos por serotipos relacionados que presentan inmunidad cruzada abre la posibilidad de preparar vacunas con un número limitado de serotipos (vacuna decavalente).

BIBLIOGRAFIA

Grist, N. R.; Bell, E. J., y Assaad, F.: Enterovirus in human disease. Progr. Med. Virol., 24, 114-119, 1978.

Gwaltney, E. M.: Rhinoviruses. En Evars, A. S. (dir.): Viral infections of humans: Plenum Press, New York, 1976.

Melnick, J. L.: Enteroviruses. En Evars, A. S. (dir.): Viral infections of humans. Plenum Press, New York, 1976.

Melnick, J. L.: Advantages and disadvantages of killed and lived poliomyelitis vaccines. Bull. WHO, 56, 21-32, 1978.

Capítulo 59

Reovirus

Agustín Pumarola

CONCEPTO Y CLASIFICACION

La familia *Reoviridae* está compuesta por virus icosaédricos sin envoltura, de mayor tamaño que los picornavirus (60-80 nm), caracterizados en que contienen una doble cadena de ARN, de ahí su antigua denominación de diplornavirus (diplo–rna–virus).

Por lo general, el cápside de simetría icosaédrica está formado por una doble capa o cubierta proteica. Si se elimina la cubierta externa, queda el *core*, o parte central, constituido por la cubierta interna icosaédrica, que presenta 12 proyecciones en los ejes de simetría 5 y contiene el genoma formado por una doble cadena de ARN, dividida en 10-12 fragmentos asociados con moléculas de transcriptasa. Los virus se multiplican en el citoplasma, donde a veces forman cuerpos de inclusión o acumulaciones de viriones en disposición cristalina.

Se dividen en 6 géneros, *Reovirus*, *Orbivirus*, *Rotavirus*, *Phytoreavirus*, *Fijivirus* y *Cypovirus*, de los cuales los tres primeros comprenden los reovirus humanos y animales, los dos siguientes, los reovirus de las plantas y el último, los virus de la polihedrosis citoplásmica que infecta a los insectos. Aunque los reovirus humanos presentan unas características semejantes, pueden diferenciarse por su estructura, estabilidad, caracteres antigénicos, capacidad de desarrollo en distintas células y huéspedes, y la variedad de enfermedades que originan.

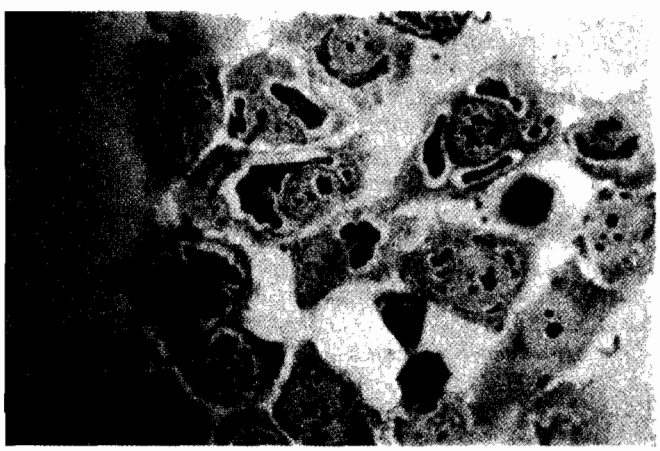


Fig. 59-1. Acción citopática de reovirus en células de riñón de mono. Inclusiones citoplásmicas eosinófilas que rodean el núcleo.

GENERO REOVIRUS U ORTHOREOVIRUS

Está formado por virus de 75-80 nm, con una doble cubierta dividida en capsómeros, probablemente 92. El *core* de 52 nm presenta 12 proyecciones y contiene un ARN bicatenario dividido en 10 fragmentos asociados con moléculas de transcriptasa.

Son resistentes al éter y a los ácidos y tienen la propiedad de aglutinar los glóbulos rojos humanos del grupo O. Presentan antígenos de grupo demostrables por FC y antígenos tipoespecíficos demostrables por NT e IH, que han permitido dividirlos en tres serotipos (1, 2 y 3), los cuales pueden infectar indistintamente al hombre y a los animales.

Se desarrollan con facilidad en una gran variedad de células primarias o de línea (HeLa, KB) y producen alteraciones citopáticas, de desarrollo lento, con la aparición de inclusiones citoplásmicas eosinófilas, que pueden ser múltiples o estar constituidas por una gran inclusión en forma de C que rodea el núcleo de la célula sin afectarlo (fig. 59-1).

Virus semejantes a los serotipos humanos se encuentran muy difundidos en diversas especies de vertebrados (perros, cerdos, bóvidos, caballos, monos).

El nombre de reovirus deriva de *respiratory-enteric-orphanvirus*, para indicar su probable intervención en infecciones respiratorias y digestivas, aunque en realidad no se conoce con certeza si producen enfermedades en el hombre (virus huérfanos). Los tipos 1 y 3 se han aislado de enfermos con una gran variedad de cuadros clínicos, en especial procesos febriles con diarrea en niños, afecciones respiratorias agudas del tipo rinitis, faringitis y bronquitis, así como cuadros eruptivos, con manifestaciones neurológicas, hepáticas y gastrointestinales, de casos de atresia biliar e incluso de personas sanas, lo que hace difícil asegurar una relación etiológica. Por encuestas serológicas ha podido demostrarse la presencia de anticuerpos en el 50-70 % de niños y adultos, lo que hace suponer que las infecciones leves o inaparentes se encuentran muy difundidas.

Se aíslan de las secreciones respiratorias y de las heces por inoculación en células embrionarias humanas o de riñón de mono. El género se identifica por FC y el serotipo, por NT.

GENERO ORBIVIRUS

Forman un grupo de reovirus transmitidos por artrópodos (arbovirus), de tamaño algo menor (65-80 nm), que

presentan una cubierta interna de simetría icosaédrica, dividida en 32 capsómeros de gran tamaño, que adoptan una morfología circular o en anillo, característica del género, y son visibles a través de la cubierta externa, que es difusa. Contienen un ARN bicatenario dividido en 10 fragmentos.

Se diferencian de los reovirus por su sensibilidad a los ácidos y de los restantes arbovirus (togavirus, bunyavirus) por su resistencia al éter y solventes orgánicos. Presentan la propiedad de aglutinar los glóbulos rojos de pollo de 1 día. Se pueden dividir en 17 subgrupos serológicos por la reacción de FC y éstos a su vez en más de 80 serotipos por la reacción de IH.

Pueden producir infecciones en el hombre y en diversas especies animales y están caracterizados porque en su transmisión intervienen diversos artrópodos: subgrupos Lengua azul (culicoides), Corriparta (mosquitos), Changuinola (*Phlebotomus*) y garrapatas. Los virus más importantes que afectan al hombre son el virus de la fiebre por garrapatas del Colorado y los virus del subgrupo Kemerova que están difundidos en Europa Oriental, Egipto, Sudán, California y Perú.

La fiebre por garrapatas del Colorado es una infección de los pequeños roedores salvajes, que se transmite al hombre por la garrapata *Dermacentor andersoni*. Su distribución geográfica es paralela a la del vector y afecta a acampadores, excursionistas y trabajadores del bosque en diversos estados (California, Colorado, Montana, Nevada, Idaho) de Estados Unidos.

Las larvas de *Dermacentor* se infectan en los roedores durante la fase de viremia, y a los pocos días aparece el virus en la saliva. La garrapata adulta permanece infectada durante toda su vida y transmite la infección al hombre por picadura. El virus, después de la fase inicial, infecta los ganglios linfáticos y llega al bazo, se multiplica en las células y produce un bloqueo en la maduración de leucocitos y plaquetas. En la sangre no se encuentra libre en el plasma, sino asociado con los hematíes, que en gran número contienen antígeno. En el 10-20 % de casos puede invadir el SNC y producir encefalitis.

La enfermedad se caracteriza por un cuadro febril bifásico; en la primera fase se produce cefalalgia, mialgias y debilidad, con leucopenia y trombopenia, y pueden producirse en los casos graves hemorragias y encefalitis.

El diagnóstico se puede sospechar por los datos clínicos, antecedentes epidemiológicos y situación geográfica. El virus puede aislarse de los hematíes por inoculación en cultivos celulares o en ratón lactante por vía intracerebral. También puede demostrarse la presencia de antígeno en los hematíes por inmunofluorescencia y de anticuerpos en el suero por reacciones de NT, IC e IF.

No existe tratamiento específico. La profilaxis se basa en evitar las áreas infestadas y la picadura de garrapatas (repelentes). Se encuentra en estudio la preparación de una vacuna con virus inactivado.

GENERO ROTAVIRUS

El virión tiene un diámetro de 65-75 nm y presenta un cápside constituido por una doble cubierta, de contorno circular liso bien delimitado, que junto con las proyecciones del core le comunica el aspecto característico de rueda (llanta con sus radios), cuando se observa por microscopia electrónica con tinción negativa (fig. 59-2). Contiene un ARN bicatenario, dividido en 11 fragmentos, a diferencia de los géneros anteriores. Es estable a los ácidos y resistente al éter y solventes orgánicos.

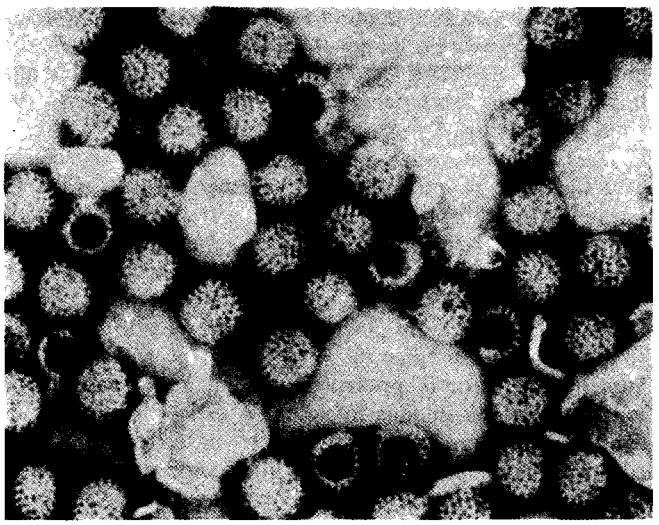


Fig. 59-2. Rotavirus. Microfotografía electrónica por tinción negativa, que muestra el aspecto de rueda.

Los rotavirus se han encontrado en las heces del hombre y de diversas especies animales. Contienen un antígeno común, probablemente localizado en la cubierta interna, que se demuestra por FC e IF, y antígenos tipoespecíficos en la cubierta externa demostrables por otras reacciones serológicas. En los rotavirus humanos se han identificado por FC dos serogrupos (I y II) y por NT cuatro serotipos (1, 2, 3 y 4) (tabla 59-1).

Mientras que gran número de rotavirus animales han podido mantenerse por pases en cultivos celulares, no ocurre lo mismo con las cepas de rotavirus humanos. Recientemente se ha efectuado un gran avance en el cultivo de los rotavirus humanos, empleando técnicas de cocultivo con rotavirus animales y también por inoculación en células de mono en tubos rotatorios, previo tratamiento de las muestras por tripsina, con las que se ha conseguido aislar rotavirus del 75 % de muestras fecales.

Los rotavirus producen diarreas en los animales jóvenes de diversas especies (terneros, cerdos, corderos, conejos). En el hombre intervienen en la producción de diarreas en los niños mayores de 6 meses, pues en estos casos se han podido observar rotavirus en las heces con mayor frecuencia, los niños desarrollan una respuesta inmune y su inoculación a animales jóvenes les produce diarrea. También se han observado rotavirus en las heces de niños sanos, aunque en proporción mucho menor, especialmente en niños menores de 6 meses sometidos a lactancia artificial.

Tabla 59-1. Rotavirus. Clasificación

Serogrupos	Serotipos	Cepas
I	2	DS-1, S2, KUN
II	1	Wa, K8, Ku
II	3	M, P, Ito, Nemoto, Yo
II	4	ST4, Hochi, Hosokawa

Se supone que se transmiten por contacto directo, por la vía fecal-oral, sobre todo por manos sucias, aun cuando, debido a su resistencia a los agentes externos, es probable que también se produzca por contacto indirecto o a través del agua y alimentos. Se encuentran y eliminan por las heces en cantidades elevadas 10^6–10^{11}/g, lo que representa una gran facilidad de transmisión, y son muy frecuentes las infecciones intrahospitalarias. Son virus muy difundidos, de manera que a partir de los 3 años de edad gran número de niños presentan anticuerpos en su suero, por cuyo motivo no se presentan en forma de brotes en la comunidad.

El mecanismo de producción de la diarrea no se conoce con certeza. Los niveles de AMP cíclico no se encuentran aumentados, pero la presencia de una gran cantidad de virus en las vellosidades intestinales, especialmente en las células más diferenciadas de su extremidad, con una gran capacidad potencial de funciones, hace suponer que se produzcan alteraciones de la absorción y del fisiologismo normal, probablemente déficit en la síntesis de diversas enzimas, que serían la causa de estos procesos.

Se considera que los rotavirus intervienen en el 40-60 % de gastroenteritis en los niños de 6 meses a 2 años de edad, que aparecen en invierno y son producidas especialmente por el serotipo 2. Después de un período de incubación corto, se presenta fiebre, vómito y diarrea (sin moco, sangre ni leucocitos), que puede variar desde una diarrea blanda a una acuosa con cierto grado de deshidratación, y aunque por lo general el cuadro es benigno y se produce la curación en 1-2 semanas (media de 5 días), se han observado casos de deshidratación graves e incluso mortales. Los rotavirus también se han encontrado en las heces en casos de otras enfermedades (enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, esclerosis en placas, encefalitis, uremia hemolítica), cuyo papel en su determinismo se desconoce.

El diagnóstico se efectúa por examen directo de las heces con el microscopio electrónico por el método de tinción negativa, lo que permite observar su imagen característica siempre que su concentración en las heces sea superior a 10^6/g. Se mejoran los resultados mediante métodos de concentración por centrifugación o por la adición de suero inmune (MEI). También se utiliza la centrifugación de los extractos de heces directamente sobre cultivos celulares, lo que facilita la infección de las células, y puede demostrarse la presencia del virus o de sus antígenos por inmunofluorescencia.

La necesidad de emplear métodos de rutina que permitan detectar concentraciones menores de virus en las heces ha hecho que recientemente se empleen otras técnicas, como la contrainmunoelectroforesis, el radioinmunoensayo, hibridación *in situ* y el test inmunoenzimático ELISA, que es el método de elección. Estos métodos también se utilizan para la demostración de anticuerpos en el suero de los enfermos, usando como antígeno cultivos de órganos, en especial la detección de las IgM específicas por IF o ELISA, e incluso la microscopia electrónica inmune, pues la adición de suero del enfermo produce la aglutinación de los viriones, pero hay que tener en cuenta que, debido a la presencia de infecciones inaparentes, los resultados son difíciles de interpretar.

Dada la importancia de las diarreas infantiles por rotavirus como causas de morbilidad y mortalidad infantil, sería del mayor interés la obtención de una vacuna eficaz, preparada con rotavirus animales o recombinantes, que administrada por vía oral indujera la aparición de anticuerpos locales (IgA secretora) en la mucosa intestinal del niño. A este respecto se ha preparado una vacuna oral con mutantes «ca» adaptadas al frío de rotavirus bovinos (cepa NCDV), que ha dado buenos resultados. Sin embargo, los avances efectuados con las técnicas de cultivo han hecho que se intente obtener mutantes atenuadas de rotavirus humanos o recombinantes entre un virus humano y uno animal, dada la existencia de un genoma segmentado.

También se estudia la posibilidad de obtener el antígeno protector principal (VP7) por la técnica del ADN recombinante e incluso de conseguir por síntesis peptídica el epítope de dicho antígeno, previa determinación de su secuencia en aminoácidos.

Por otra parte, el hecho de que los niños sometidos a lactancia materna presenten con menor frecuencia infecciones por rotavirus ha sugerido la posibilidad de proteger a los niños de alto riesgo por inmunización pasiva, ya vacunando a las madres y aumentando el título de IgA en la leche materna o mediante la administración por vía oral de γ-globulina, que en experiencias en animales se ha demostrado eficaz.

GASTROENTERITIS VIRICA

La extraordinaria frecuencia de las diarreas infantiles y el hecho de que solamente se haya podido determinar su etiología bacteriana en una tercera parte de los casos han inducido a estudiar la importancia que revisten de los virus en su etiología.

En una primera fase (1950-1970), la aplicación de las técnicas de cultivo celular permitió el aislamiento de las heces de diversos virus (enterovirus, adenovirus, reovirus), que en su mayoría no estaban relacionados con casos de diarrea. Pero, a partir de 1970, el empleo de técnicas de examen directo por microscopia electrónica ha permitido demostrar en las heces de los niños con diarrea la presencia de virus o de estructuras semejantes a virus, cuyo número ha aumentado rápidamente (tabla 59-2). A diferencia de los anteriores se encuentran en las heces a concentraciones mucho más elevadas y no se desarrollan en los cultivos celulares de rutina, con pocas excepciones.

Dentro de este apartado se pueden distinguir un grupo de virus de tamaño medio (70-130 nm), como los adenovirus intestinales (cap. 57), coronavirus (cap. 63) y reovirus (cap. 59), que ya han sido considerados, de los cuales los rotavirus son los más importantes como agentes causales de casos esporádicos y de brotes epidémicos de gastroenteritis en los niños menores de 2 años de edad.

Por otra parte, se han observado en las heces de casos de diarrea y también de personas sanas una gran variedad de virus de pequeño tamaño (20-40 nm) o *small round viruses* (SRV_s), que según su morfología, cuando se observan al microscopio electrónico por el método de tinción negativa, se pueden dividir en: *a)* virus de contorno liso y aparentemente sin estructura, que por lo general corresponden a grupos definidos de virus, como los enterovirus (cap. 58) y parvovirus (cap. 57), y *b)* virus de contorno rugoso y estructura característica, cuya situación taxonómica en su mayoría aún no está bien determinada, como son los calicivirus, astrovirus y el grupo de virus Norwalk de interés como agentes causales de gastroenteritis.

Tabla 59-2. Caracteres de los virus y agentes observados en casos de gastroenteritis

	Tamaño (nm)	Inoculación experimental	Causa importante de diarrea	Diagnóstico	
				Antígeno en heces	Respuesta serológica
Adenovirus	70-90		No		FC, IH
Coronavirus	80-130	Sí	No	ME, MEI	FC, IH
Reovirus (rotavirus)	60-80	Sí	Sí	ME, MEI, IF	MEI, ELISA
Parvovirus	22-26		¿No?		
Calicivirus	30-40	Sí	No	MEI, RIA	MEI, RIA
Astrovirus	28-30	Sí	No	MEI, IF	MEI, IF
Grupo Norwalk					
Tipo calicivirus					
Virus Norwalk	27-32	Sí	Sí	MEI, RIA	MEI, RIA
Agente Hawai	26-29	Sí	No	MEI	MEI
Agente Montgomery County	27-32	Sí	No	MEI	MEI
Agente Marín County	27	Sí	No	MEI, RIA	MEI
Agente Taunton	32-34		No	ME	NP
Tipo parvovirus					
Agente Ditchling	25-26		No	ME	MEI
Agente W	25-26	Sí	No	ME	MEI
Agente Cockle	25-26		No	ME	MEI
Agente Paramatta	23-26		No	ME	MEI
Agente Snow Mountain	27-32		No	MEI, RIA	MEI

FC: Fijación del complemento. ME: Microscopia electrónica. MEI: Microscopia electrónica inmune. RIA: Radioinmunoensayo. IF: Inmunofluorescencia.

Calicivirus

Son virus esféricos, de 35-39 nm de diámetro, con simetría icosaédrica y reborde dentado, con 6 puntas y 32 depresiones en forma de copa, que le comunican un aspecto característico. El centro de menor densidad contiene un ARN monocatenario de polaridad positiva y en el cápside se ha identificado una proteína estructural mayor y una proteína soluble.

Estructuras semejantes se han observado en las heces de animales (bóvidos y suinos), así como en niños y escolares afectos de diarrea y también en niños sanos, por lo que su papel causal no está bien determinado. Por MEI y RIA se ha demostrado que, a los 5 años de edad, el 65 % de niños presentan anticuerpos en el suero.

Astrovirus

Son virus de 28-30 nm de diámetro, que por tinción negativa se observan en las heces agrupados, presentando el 15-30 % un aspecto de estrella de 5 ó 6 puntas muy característico, con la parte central más densa. Recientemente se ha logrado el desarrollo de una cepa en cultivos celulares, lo que ha permitido demostrar que contiene un ARN monocatenario y dos proteínas mayores en el cápside, lo que probablemente supondrá un nuevo grupo de virus.

Se encuentran asociados con casos y brotes benignos de gastroenteritis en los animales (perros, terneras) y en el hombre (niños y adultos), y se ha demostrado que más del 70 % de niños presentan anticuerpos a los 5 años de edad.

Grupo Norwalk

En octubre de 1968 se presentó un brote epidémico de gastroenteritis en una escuela de la población de Norwalk (Ohio) que afectó al 50 % de escolares, algunos maestros y contactos familiares. En las heces no se pudo demostrar la presencia de bacterias enteropatógenas, pero la administración por vía oral de filtrados en voluntarios permitió reproducir la enfermedad. Los intentos de cultivo de un virus fueron siempre negativos, pero en 1972 por microscopia electrónica inmune se pudo demostrar en las heces la presencia de partículas de 27 nm, que se han considerado como el agente causal de la enfermedad.

El virus Norwalk es un virus esférico, sin envoltura, de 27 nm de diámetro, que presenta un cápside probablemente icosaédrico, con una proteína estructural mayor (PM 59.000) y una proteína soluble (PM 30.000), y sin que por el momento se conozca el tipo de ácido nucleico. Es resistente al calor (30 min a 60 °C), éter y ácidos y tiene una densidad por centrifugación en Cl Cs de 1,37-1,40 g/cm^3. No se ha podido cultivar, pero por tinción negativa se observa con el borde dentado, a veces en forma de cúpula, por cuyo motivo y otras características se considera como un probable calicivirus.

Posteriormente y a partir de las heces de brotes de diarrea, se han observado partículas que se han atribuido al mismo virus o a virus semejantes (tabla 59-3). Entre ellas se pueden considerar los agentes Hawai, Montgomery County, Marin County y Taunton del mismo tamaño (23-34 nm) y probablemente los agentes Ottofuke y Sapporo de tamaño algo mayor (33-40 nm). Por el contrario, los agentes Ditchling, W, Cockle y Paramatta, de pequeño tamaño y que también se han aislado de las heces de brotes epidémicos de diarrea en niños y adultos, por sus características morfológicas se consideran más semejantes a parvovirus.

El empleo de RIA ha permitido demostrar que los anticuerpos frente al virus Norwalk aumentan poco a poco durante la infancia para acelerarse en la adolescencia y edad adulta, de manera que, en la década de los 50, alrededor del 50 % presentan anticuerpos, a diferencia de lo que ocurre

Tabla 59-3. Grupo Norwalk. Agentes y brotes de gastroenteritis

Agente	Epoca e institución	Lugar	Transmisión	Población afectada
Virus Norwalk	Octubre 1968, en escuela primaria	Norwalk Ohio (EEUU) Australia	Agua y alimentos	Niños (116), profesores y contactos familiares
Virus Norwalk	Junio-julio 1978	Australia	Ostras	Más de 2.000 personas de todas las edades
Virus Norwalk	1976-1980 (30 brotes)	Estados Unidos	Diversos	Niños y adultos
Hawai	Brote familiar, 1977	Estados Unidos	Contacto	Padre, madre, hijos y convivientes
Montgomery County	Brote familiar	Estados Unidos	Contacto	Padre, madre, hijos y convivientes
Marin County	Casa de convalecencia, 1978	California (EE.UU.)	Agua y alimentos	Adultos y personas de edad avanzada (168)
Taunton	Hospital, 1979	Inglaterra		Pacientes (19) y personal
Snow Mountain	Campamento de vacaciones	Colorado (EE.UU.)	Brote hídrico	4/8 escolares y adultos
Ditschling	Escuela primaria, octubre 1975	Inglaterra	?	33 niños
W	Escuela secundaria, marzo 1972	Inglaterra	?	200 preescolares
Cockle	Diciembre 1978	Inglaterra	Mariscos	Adolescentes y adultos
Paramatta	Escuela primaria, julio 1977	Sidney (Australia)		207 niños y profesores
Otofuke-Sapporo	Escuela de retrasados mentales, 1979	Japón		Adolescentes y adultos

con los rotavirus, en que a los 3 años de edad ya el 90 % de la población los presenta.

En el momento actual, el virus Norwalk se considera como la causa más importante de casos y brotes epidémicos de gastroenteritis no bacterianas, que se presentan en comunidades, como escuelas, campamentos, hospitales, casas de convalecencia e incluso medio familiar, y que afectan a niños, escolares, adultos y personas de edad avanzada.

Son infecciones muy difundidas, benignas y autolimitadas, que aparecen en la mayoría de países durante todo el año, pero especialmente en otoño e invierno. Se transmiten por vía oral-fecal, en general a partir de una fuente común, como el agua, alimentos (ensaladas, crustáceos) y baños, y también por contacto en el medio familiar e instituciones.

Producen cuadros de gastroenteritis, caracterizados por un período de incubación de 24 horas por término medio, seguidos de cefalalgia, náuseas, vómitos y diarrea, a veces con febrícula y una duración de 1 a 3 días, observándose un predominio de los vómitos en los niños y de la diarrea en los adultos. Afectan el intestino delgado, donde se observa un acortamiento y ensanchamiento de las vellosidades intestinales con hipertrofia de las criptas, mientras que las células de la mucosa presentan un aspecto normal. Sin embargo, se observan alteraciones en la absorción de las grasas y algunos azúcares (xilosa, lactosa) como consecuencia de la disminución de la secreción de algunas enzimas (fosfatasas alcalinas) y, por el contrario, normalidad en la producción de adenilciclasa.

BIBLIOGRAFIA

Flewett, T. H., y Woode, G. N.: The rotavirus, brief review. Arch. Virol., 57, 1-23, 1978.

Holmes, I. H.: Viral gastroenteritis. Progr. Med. Virol., 25, 1-36, 1979.

Kapikian, A. Z.; Yolken, R. H.; Greenberg, H. B., y cols.: Gastroenteritis viruses. En Lennette, E. H., y Schmidt, P. (dirs.): Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamydial infections, 5.ª ed. Ann. Publ. H. Assoc., Washington, 1979.

Wyatt, R. G.; Kalica, A. R.; Mebus, C. A.; Kim, H. W., y cols.: Reovirus like agents (rotaviruses) associated with diarrheal diseases in animal and man. Perspect. Virol., 10, 121-129, 1978.

Capítulo 60

Arbovirus: togavirus, bunyavirus y orbivirus

Agustín Pumarola

CONCEPTO

Los arbovirus *(arthropod-borne-virus)* comprenden un amplio y heterogéneo grupo de virus que producen infecciones en los animales y en el hombre, caracterizados porque en su transmisión intervienen como vectores biológicos diversos artrópodos hematófagos.

Una de las características más importantes, que los diferencia de los demás virus, es su capacidad de infectar y multiplicarse tanto en las células y tejidos de huéspedes de sangre caliente (vertebrados) como en los de sangre fría (invertebrados), en condiciones ambientales muy diversas.

Estos virus creados sobre una base epidemiológica o ecológica se clasificaron atendiendo a su estructura antigénica en grupos serológicos caracterizados por la presencia de antígenos comunes demostrables por reacciones de inhibición de la hemaglutinación (IH) y de fijación del complemento (FC) (grupos A, B, C, Bunyamwera, California, fiebre por *Phlebotomus*, etc.), y se diferenciaron los virus de cada grupo por sus antígenos específicos mediante reacciones de neutralización (NT). Pero más tarde, como consecuencia de los avances producidos en el conocimiento de la morfología, estructura y propiedades físico-químicas de los virus, se pudo demostrar que los arbovirus formaban un grupo heterogéneo de ribovirus, que desde el punto de vista taxonómico podían clasificarse en cuatro familias *(Togaviridae, Bunyaviridae, Reoviridae* y *Rhabdoviridae)*, en las que también se incluían virus no transmitidos por artrópodos.

En la actualidad, los arbovirus comprenden más de 350 virus, de los cuales alrededor de 100 pueden producir infecciones en el hombre y unos 40, síndromes clínicos de diversa gravedad, que se presentan fundamentalmente en los países de clima templado y tropical, caracterizados por la presencia constante de reservorios y vectores, que junto con las condiciones económico-sociales constituyen los factores limitantes de su distribución geográfica y los principales obstáculos para el desarrollo en estos países.

PROPIEDADES Y CLASIFICACION

Los arbovirus humanos se encuentran en su gran mayoría en las familias *Togaviridae* y *Bunyaviridae* y algunos, en el género *Orbivirus* de la familia *Reoviridae* (tabla 60-1).

La familia *Togaviridae* está integrada por virus esféricos, de pequeño tamaño (40-70 nm), constituidos por una envoltura con proyecciones que recubre un nucleocápside de simetría icosaédrica, compuesto por unidades morfológicas cuyo número se desconoce (32, 42). Contienen una cadena continua de ARN de polaridad positiva, que se comporta como ARN mensajero y tiene carácter infeccioso.

Son virus sensibles al éter y desoxicolato, que presentan la propiedad de aglutinar de forma irreversible los glóbulos rojos de pollo de 1 día, así como los de paloma y de ganso, en condiciones bien determinadas de temperatura y pH.

Se desarrollan en gran número de células primarias o de línea, en las que producen alteraciones citopáticas y el fenómeno de la hemadsorción que ha permitido reemplazar en muchos casos los métodos de inoculación intracerebral al ratón lactante.

Comprenden cuatro géneros *Alphavirus, Flavivirus, Rubivirus* y *Pestivirus*, de los cuales sólo los dos primeros contienen arbovirus. Los *Pestivirus* incluyen virus patógenos para los animales (virus de la peste porcina, virus de la enfermedad mucosa o diarrea de los bóvidos) y los *Rubivirus* comprenden el virus de la rubéola, que desde el punto de vista epidemiológico y patogénico está relacionado con los paramixovirus productores de infecciones generalizadas (virus del sarampión y de la parotiditis) y se considera aparte (cap. 64).

Tabla 60-1. Morfología y estructura de los arbovirus

Familia o género	Tamaño (nm)	Envoltura	Simetría del cápside	ARN		
				N.º de cadenas	Fragmentos	Polaridad
Familia *Togaviridae*	40-70	Sí	Icosaédrica	1	1	Positiva
Familia *Bunyaviridae*	90-100	Sí	Helicoidal	1	3	Negativa
Género *Orbivirus*	55-65	No	Icosaédrica (32 capsómeros)	2	10	Negativa

Tabla 60-2. Togaviridae. Características diferenciales de los géneros Alphavirus y Flavivirus

	Alphavirus	*Flavivirus*
Tamaño	70 nm	40-50 nm
Maduración	Membrana citoplásmica	Vesículas citoplásmicas
Proteínas	Proteína C: proteína básica asociada al nucleocápside; reacciones cruzadas por FC Proteína E1; glicoproteína de las proyecciones (hemaglutinina); reacciones cruzadas por IH Proteína E2; glicoproteína de las proyecciones, tipo específica, diferencia los serotipos por NT Anticuerpos protectores	Proteína V1, polipéptido de la envoltura Proteína V2, proteína básica asociada al nucleocápside, específica de género Proteína V3, glicoproteína de las proyecciones (hemaglutinina) Reacciones cruzadas por IH Reacciones tipoespecíficas por NT
Antígenos de grupo	Proteína C del nucleocápside (FC) y proteína E1 o hemaglutinina (IH)	Proteína V2 del nucleocápside (FC) Proteína V3 ó hemaglutinina (IH)
Antígenos tipoespecíficos	Proteína E2, reacciones de NT	Proteína V3 ó hemaglutinina (NT)
Hemaglutinación		
pH	5,8-6,2	6,2-6,4
Temperatura	37 °C	4-22 °C

Los alfavirus se distinguen de los flavivirus (tabla 60-2) por su mayor tamaño, porque la maduración se produce por evaginación de la membrana citoplásmica de la célula y no de vacuolas del citoplasma y porque presentan antígenos de grupo diferentes. Entre los distintos virus de cada género se producen reacciones cruzadas de intensidad variable, que se demuestran por reacciones de IH y pueden diferenciarse por reacciones de NT. Los anticuerpos neutralizantes son responsables de la inmunidad, que es intensa y de larga duración. La mayoría de togavirus mantienen su capacidad antigénica por tratamiento con formol, a excepción del virus de la fiebre amarilla, lo que explica que las vacunas inactivadas no sean inmunizantes. Por otra parte, la capacidad hemaglutinante sobre los glóbulos rojos de pollo de 1 día o de ganso requiere condiciones de pH y temperaturas distintas.

Todos los *Alphavirus* y la mayoría de *Flavivirus* se comportan como arbovirus (tabla 60-3). El género *Alphavirus* se corresponde con los arbovirus del grupo A y comprende 25 especies transmitidas por mosquitos, y los más importantes son los virus de las encefalitis equinas (oriental, occidental y de Venezuela), Semliki, Sindbis y el complejo Chikungunya.

El género *Flavivirus* corresponde a los arbovirus del grupo B. Comprende 56 especies, que desde el punto de vista serológico y epidemiológico se han clasificado en subgrupos según sean transmitidos por mosquitos, garrapatas o un vector desconocido:

1. Transmitidos por mosquitos: virus de la fiebre amarilla, virus del dengue (1, 2, 3 y 4), virus de la encefalitis japonesa, encefalitis de San Luis, encefalitis del Valle de Murray, virus del Nilo occidental, etc.
2. Transmitidos por garrapatas: virus de la encefalitis por garrapatas, con dos subtipos, de Europa Central y de Siberia, virus de la encefalitis de Powassan, virus de la fiebre

Tabla 60-3. Principales arbovirus de interés médico

Familia, género o grupo	Especie o virus	Vector principal	Huésped natural	Síndrome clínico	Distribución
Familia *Togaviridae*					
Género *Alphavirus*	Encefalitis equina oriental	Mosquitos	Aves (caballos)	Encefalitis	América del Norte y Sur
	Encefalitis equina occidental	Mosquitos	Aves (caballos)	Encefalitis	América del Norte y menos del Sur
	Encefalitis equina de Venezuela	Mosquitos	Roedores, caballos	Síndrome febril, encefalitis	América del Norte y Sur
	Sindbis	Mosquitos	Aves	Síndrome febril	Africa, Asia
	Semliki Forest	Mosquitos	Aves	Encefalitis	Africa
	Chikungunya	Mosquitos	Primates, hombre	Síndrome febril, rash y artritis	Africa, India
	Mayaro	Mosquitos	Primates	Síndrome febril, rash y artritis	Sudamérica, Trinidad
	O'nyong-nyong	Mosquitos	Primates	Síndrome febril, rash y artritis	Africa
	Ross River (otros 16 virus)	Mosquitos	Mamíferos, hombre	Síndrome febril, rash y artritis	Australia, Pacífico

Tabla 60-3. *(Continuación.)*

Familia, género o grupo	Especie o virus	Vector principal	Huésped natural	Síndrome clínico	Distribución
Género *Flavivirus*	Encefalitis de San Luis	Mosquitos	Aves	Encefalitis	América
	Encefalitis japonesa	Mosquitos	Aves, cerdos	Encefalitis	India, China, Japón
	Encefalitis del Valle Murray	Mosquitos	Aves	Encefalitis	Australia
	Encefalitis del Nilo occidental	Mosquitos	Aves	Síndrome febril	Oriente Medio
	Dengue (1, 2, 3 y 4)	Mosquitos	Hombre	Síndrome febril y rash, F. hemorrágica	Trópico, Universal
	Fiebre amarilla (otros 18 virus transmitidos por mosquitos)	Mosquitos	Primates, hombre	Fiebre hemorrágica, hepatitis	Africa, América del Sur
	Encefalitis por garrapatas (tipos europeo y del Lejano Oriente)	Garrapatas	Roedores	Encefalitis	Europa Central, Asia (URSS)
	Encefalitis de Powassan	Garrapatas	Roedores	Encefalitis	América del Norte
	Fiebre hemorrágica de Omsk	Garrapatas	Roedores	Fiebre hemorrágica	Siberia
	Fiebre de Kyasanur Forest	Garrapatas	Primates, roedores	Fiebre hemorrágica	India
	Meningoencefalitis ovina (otros 6 tipos transmitidos por garrapatas)	Garrapatas	Ovejas	Meningitis, encefalitis	Inglaterra, Escocia
	Río Bravo (otros 17 virus con vector desconocido)	Desconocido	Desconocido	Encefalitis	California, Texas
Familia *Bunyaviridae*					
Género Bunyavirus					
Grupo C	14 virus	Mosquitos	Roedores salvajes	Síndrome febril	América del Sur y Central
Bunyamwera	25 virus	Mosquitos	Roedores	Síndrome febril	Africa, América del Sur, Panamá
California	14 virus: California		Roedores	Encefalitis	Estados Unidos
	14 virus: La Crosse	Mosquitos	Roedores	Encefalitis	Estados Unidos
	14 virus: Tahyna		Roedores (caballos)	Síndrome febril	Europa
Bwamba	2 virus	Mosquitos		Síndrome febril	Africa
Guama	12 virus	Mosquitos	Roedores salvajes		
Simbu (hasta 16 grupos)	25 virus (hasta 145 virus)	Culicoides	Ovidos, bóvidos	Fiebre y artralgias	Australia, Japón
Género *Phlebovirus*	Virus de fiebre por *Phlebotomus*	*Phlebotomus*	Roedores	Síndromes febriles	Europa, Asia, Africa América del Sur, Panamá
(1 grupo)	Virus de la fiebre del Valle del Rift	Mosquitos	Mamíferos domésticos (hepatitis, abortos)	Síndrome febril Fiebres hemorrágicas Encefalitis	Africa
Género *Nairovirus*					
(3 grupos)	Virus de fiebre hemorrágica Crimea-Congo (hasta 27 virus)	Garrapatas	Mamíferos domésticos y salvajes	Fiebres hemorrágicas	Africa y Asia
Género *Uukuvirus*	Virus Uukuniemi	Garrapatas	Roedores	Síndrome febril	
(1 grupo)	Virus Grand Arband (hasta 7 virus)				
Género *Hantaan virus*	–	–	Roedores	Fiebre hemorrágica con síndrome renal Nefropatía epidémica	URSS, Corea, Países Escandinavos
No clasificados (4 grupos)	Más de 22 virus				
Familia *Reoviridae*					
Género *Orbivirus*					
Fiebre por garrapatas del Colorado		Garrapatas	Roedores (ardillas)	Síndrome febril Fiebres hemorrágicas Encefalitis (10 %)	Estados Unidos
Kemerova (hasta 12 grupos)	(hasta 53 virus)	Garrapatas	Roedores.	Síndrome febril, meningitis	Siberia

de Kyasanur Forest, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk y virus de la encefalomielitis ovina *(louping-ill)*.

3. Vector desconocido: virus del Río Bravo y otros 16 virus.

La familia *Bunyaviridae* comprende virus esféricos, de mayor tamaño (90-100 nm), constituidos por una envoltura con proyecciones que recubren un nucleocápside de simetría helicoidal, que maduran en las vesículas del aparato de Golgi. Contienen una cadena de ARN de polaridad negativa, dividida en tres segmentos (L, M y S) y asociada con moléculas de transcriptasa. Son sensibles al éter y desoxicolato. Esta familia se divide en cuatro géneros, el género *Bunyavirus* (supergrupo *Bunyamwera*), que comprende 145 virus, clasificados en 16 grupos que corresponden a los grupos serológicos C, Bunyamwera, Bwamba, California (virus Tahyna), Capim, Guama, etc.; el género *Phlebovirus*, con un grupo y más de 30 virus, que incluye los virus de la fiebre por *Phlebotomus* y el virus de la fiebre del Valle del Rift; el género *Nairovirus* con 3 subgrupos y más de 27 virus, con los virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, y el género *Uukuvirus* con 1 grupo y más de 7 virus, con el virus Uukuniemi y Grand Arbaud, como más importantes.

En la familia *Reoviridae*, los arbovirus se incluyen en el género *Orbivirus* (cap. 59, pág. 652). Está integrado por virus esféricos y desnudos de pequeño tamaño (55-65 nm), constituidos por un doble cápside proteico, y el cápside interno de simetría icosaédrica está compuesto por 32 capsómeros de gran tamaño en forma de anillo. Contiene una doble cadena de ARN, dividido en 10 segmentos asociados con moléculas de transcriptasa. El género *Orbivirus* se diferencia de los restantes reovirus por su sensibilidad a los ácidos (pH 3) y su transmisión por artrópodos. Está constituido por 53 virus clasificados en 12 subgrupos y 8 virus no agrupados, y los más importantes para el hombre son el subgrupo de la fiebre por garrapatas del Colorado y el subgrupo Kemerova.

EPIDEMIOLOGIA

Los arbovirus producen por lo general infecciones inaparentes en diversas especies de mamíferos y aves, tanto salvajes como domésticos, que constituyen el reservorio y la fuente de infección del vector. Para ello es importante la existencia de una fase de viremia prolongada con elevada densidad vírica (100.000 DI/ml).

El artrópodo vector se infecta cuando pica a dichos animales en la fase de viremia, y después de un período de incubación externa, durante la cual el virus se multiplica en los tejidos del artrópodo sin producir alteraciones, puede transmitir la infección al hombre o a otros animales.

La infección entre los animales se transmite por la picadura de mosquitos, garrapatas, flebotomos y aun ácaros, y se producen diversos ciclos de infección entre animales de la misma especie y de otras, que contribuyen a mantener y difundir la infección de la naturaleza. Los animales domésticos también pueden infectarse y comportarse como huéspedes amplificadores. Las garrapatas y ácaros de las aves pueden transmitir la infección a su descendencia por vía transovárica y actúan en este caso como reservorios.

El hombre se infecta cuando de manera accidental forma parte de la cadena y es picado por mosquitos, garrapatas o flebotomos, según los casos, y se comporta como un huésped final, porque, en general y con pocas excepciones (dengue y fiebre amarilla), los niveles de viremia son insuficientes para infectar al vector. En las regiones de clima templado, la enfermedad se presenta en forma epidémica estacional, en primavera, verano u otoño, y coincide con la presencia de condiciones adecuadas de temperatura y humedad para la reproducción del artrópodo vector en la naturaleza; en los climas tropicales, la infección se presenta en forma endémica, pues la transmisión puede realizarse durante todo el año, en especial después de la estación de las lluvias.

El mantenimiento del virus en las zonas endémicas durante las estaciones frías y secas no se conoce con certeza, pero puede producirse por diversos mecanismos:

1. Por la existencia del reservorio (aves y mamíferos salvajes) con infección inaparente o crónica y fases de viremia prolongada, como ocurre con las aves en la encefalitis equina occidental, y en las regiones frías por la existencia de mamíferos invernantes (murciélagos, serpientes, reptiles).
2. Por la supervivencia del vector infectado (ácaros, garrapatas, hembras invernantes de mosquitos) o la transmisión transovárica a la descendencia, como ocurre con las garrapatas (encefalitis de California) y *Phlebotomus* (fiebre por *Phlebotomus*).
3. Por la reintroducción del reservorio o del vector infectados procedentes de otras zonas por las aves migratorias, que pueden encontrarse infectadas o sólo transportar el vector.

ACCION PATOGENA

Los arbovirus producen infecciones clínicas o inaparentes en diversas especies de animales salvajes (monos, marsupiales, roedores, aves) y domésticos (caballos, mulas, carneros, cabras, cerdos, aves), que constituyen problemas sanitarios y ganaderos en las zonas afectadas.

Las infecciones humanas en su mayoría cursan en forma inaparente o con escasa sintomatología, pero pueden presentar cuadros clínicos, por lo general bifásicos, de gravedad variable. En una primera fase y después de un período de multiplicación local en las células del endotelio capilar o de los ganglios linfáticos, el virus pasa a la sangre produciendo un cuadro sistémico benigno, con escalofríos, fiebre y algias diversas (enfermedad menor), pero después de unos días de remisión puede ocurrir una segunda fase con localización del virus en los músculos, articulaciones, piel, vasos y vísceras (hígado, riñón) o el SNC, lo que explica que se produzcan cuadros clínicos de gravedad diversa (enfermedad mayor).

La enfermedad puede pasar inadvertida, dar lugar a un cuadro generalmente benigno y limitado a la primera fase, o presentar de entrada un cuadro más grave. Las lesiones celulares y tisulares pueden ser la consecuencia de la multiplicación del virus en las células sensibles, pero también pueden producirse por mecanismo inmunológico, como se ha sugerido en el dengue hemorrágico, en que la producción de reinfecciones por otros serotipos del mismo virus produciría una respuesta inmune exagerada que facilitaría la formación de complejos antígeno-anticuerpo y su acción lesional sobre el endotelio vascular.

Desde el punto de vista clínico se pueden distinguir tres formas clínicas o síndromes: las formas encefalíticas, las

formas hemorrágicas y las formas febriles y álgicas con o sin exantema.

Formas encefalíticas

Son afecciones inflamatorias del SNC producidas por arbovirus pertenecientes a la familia *Togaviridae* (géneros *Alphavirus* y *Flavivirus*) y menos veces a la familia *Bunyaviridae* (género *Bunyavirus* y *Phlebovirus*), que se presentan en diversas áreas geográficas (tabla 60-4). Atendiendo al vector se pueden dividir en dos grandes grupos:

Encefalitis transmitidas por mosquitos. Comprende las encefalitis equinas oriental, occidental y de Venezuela (alfavirus), de San Luis (flavivirus) y de California (bunyavirus), que se presentan en América, y las encefalitis japonesa y del Valle de Murray (Flavivirus), que se encuentran, respectivamente, en Asia y Oceanía. También se han descrito en Brasil (virus Rocío) y en México (Río Bravo).

El reservorio principal está constituido por diversas especies de aves y mamíferos, según los casos, y a veces por los ácaros y garrapatas de estos animales. En las encefalitis equinas se afecta, además, el ganado equino (caballos y mulas), que, en la encefalitis venezolana, constituye un verdadero reservorio de la infección; en la encefalitis japonesa, los cerdos actúan como huéspedes amplificadores. El hombre se comporta como un huésped accidental o terminal, lo que hace que sean poco frecuentes los casos secundarios.

Se transmiten por diversas especies de mosquitos culicinos (*Culex, Aedes, Anopheles, Haemagogus*), que difieren según el virus y el área geográfica. Cuando el mosquito pica al animal reservorio en fase de viremia, con la sangre ingresa el virus que parasita y se multiplica en las células del intestino medio; más tarde difunde por la hemolinfa y se localiza en las glándulas salivales, y a partir de este momento el mosquito se hace infectante.

Encefalitis transmitidas por garrapatas. Comprende la encefalitis por garrapatas de Europa Central y del Lejano Este (URSS, Siberia), la meningoencefalitis ovina (*louping ill*) y la encefalitis de Powassan en el Canadá.

El reservorio está constituido por pequeños mamíferos, en especial roedores, que a su vez son los huéspedes de diversas especies de garrapatas (ixódidos), que transmiten la infección al hombre y a los animales, cuando éstos se encuentran en zonas infectadas por el vector. En la meningoencefalitis ovina tienen importancia como reservorio las ovejas y en la encefalitis de Europa Central, las cabras; la infección puede producirse no sólo por la picadura de las garrapatas, sino por consumo de leche de cabra infectada. Los animales en general padecen infecciones inaparentes.

Cuadros clínicos

Después de la picadura del vector infectante, se produce la multiplicación del virus en el área local, endotelio vascular y ganglios linfáticos, dando lugar a una primera fase de viremia que puede pasar inadvertida o manifestarse por síntomas generales que va seguida a los pocos días de una segunda fase de localización encefálica. En los casos típicos, la enfermedad se caracteriza en que, después de un período

Tabla 60-4. Arbovirosis encefalíticas

Virus y enfermedades	Familia y género o grupo	Reservorio	Vector	Distribución geográfica
	Togaviridae	Aves (caballos)	*Culiseta melanura, Aedes*	Estados Unidos, Brasil, Guayana, Argentina
Encefalitis equina oriental	*Alphavirus*			
Encefalitis equina occidental	*Alphavirus*	Aves, mamíferos (caballos)	*Culex tarsalis, Culex* sp.	Estados Unidos, Canadá, América Central, Brasil, Argentina
Encefalitis equina de Venezuela	*Alphavirus*	Roedores, caballos	*Culex* sp., *Mansonia* sp., *Aedes* sp., *Borophora* sp.	América del Sur (parte norte), Central y del Norte (Florida, Texas)
Encefalitis japonesa	*Flavivirus*	Aves, cerdos	*Culex tritaeniorhinchus*	Japón, China, Corea, Siberia, Filipinas, Tailandia, India
Encefalitis de San Luis	*Flavivirus*	Aves	*Culex tarsalis, C. pipiens*	Estados Unidos (oeste, centro y sur), América Central, Colombia, Brasil, Argentina
Encefalitis del Valle de Murray	*Flavivirus*	Aves	*C. annulirostris*	Australia, Nueva Guinea
Encefalitis por virus Rocío	*Flavivirus*	Aves	*Psorophora, Aedes*	Brasil
Encefalitis por virus Río Bravo	*Flavivirus*	Murciélagos	?	México
Encefalitis por garrapatas	*Flavivirus*	Roedores, aves, cabras	*Ixodes ricinus, I. persulcatus*	Europa Central, URSS occidental, URSS oriental, Siberia
Encefalitis de Powassan	*Flavivirus*	Roedores	*Ixodes* sp., *Dermacentor* sp.	Canadá y norte de Estados Unidos
Meningoencefalitis ovina (*louping ill*)	*Flavivirus*	Roedores, ovejas	*I. ricinus*	Inglaterra, Escocia
	Bunyaviridae			
Encefalitis de California y La Crosse	*Bunyavirus* (grupo California)	Roedores	*Aedes* sp. y *Culex* sp.	Estados Unidos
Fiebre del Valle del Rift	*Phlebovirus*	Mamíferos domésticos	¿Mosquitos?	Africa
	Reoviridae			
Fiebre por garrapatas del Colorado	*Orbivirus*	Roedores	*Dermacentor*	Norteamérica

de incubación de 5-20 días, aparecen bruscamente fiebre, cefalalgia, algias generalizadas, náuseas, vómitos con ligera rigidez de nuca y malestar general; 1 ó 2 días después, se observa en los casos graves somnolencia progresiva y estupor, seguido de dificultad al hablar, confusión mental, temblores, convulsiones y coma. En otros casos se presentan formas atípicas o abortivas caracterizadas por fiebre, o el cuadro de la meningitis aséptica, pero en la mayoría de ocasiones se producen infecciones inaparentes o subclínicas que sólo se pueden demostrar por la presencia de anticuerpos en el suero, en el curso de encuestas serológicas en amplios sectores de la población humana o animal. Estas encuestas han demostrado que las infecciones inaparentes constituyen la regla y que en las zonas hiperendémicas se infecta la mayor parte de la población; las primoinfecciones y los casos clínicos se observan en la edad infantil (encefalitis equinas, japonesa y de California).

La proporción de casos de encefalitis y la mortalidad son variables. En la encefalitis equina oriental, la proporción de encefalitis es más elevada (1/25), con una mortalidad del 15-40 %, y el 70 % presentan secuelas neurológicas. La proporción disminuye en la encefalitis occidental (1/300), con casos menos graves, y especialmente en la encefalitis de Venezuela, que en general se presenta como una infección benigna, que sólo en contadas ocasiones produce encefalitis.

En las encefalitis por flavivirus transmitidas por mosquitos (encefalitis de San Luis, japonesa y del Valle de Murray), la proporción de casos varía según la neurovirulencia del virus (1/800-1/100) y las condiciones del huésped, en especial la edad del paciente. En la encefalitis japonesa y de San Luis, las formas más graves y la mayor mortalidad se presentan en las personas de edad avanzada.

En las encefalitis transmitidas por garrapatas se producen casos con mayor frecuencia y una mortalidad elevada (20 %). La enfermedad se ha denominado encefalitis vernoestival rusa y encefalitis por garrapatas del Lejano Oriente, porque primero se observó en Rusia oriental y Siberia, y afectaba a pequeños mamíferos de los grandes bosques y a las personas que en ellos trabajaban (constructores, tramperos, granjeros, taladores), y era producida por la picadura de la garrapata *Ixodes persulcatus*, que producía cuadros monofásicos de meningoencefalitis con mortalidad elevada (20-30 %). A partir de 1940 se detectó en Rusia occidental y diversos países de Europa Central, una forma más benigna (1-2 % de mortalidad) con un curso difásico (encefalitis difásica por garrapatas de Europa Central), transmitida fundamentalmente por *Ixodes ricinus* y también por consumo de leche de cabra, y se han descrito importantes epidemias en Checoslovaquia.

Entre las encefalitis por bunyavirus, las producidas por el grupo de California (virus California y La Crosse) son las más importantes y graves, especialmente la encefalitis de La Crosse que ha producido numerosos casos en diversas regiones boscosas de Estados Unidos y Canadá. Intervienen como huéspedes las ardillas y el virus se transmite por *Aedes triserialis*. También el virus de la fiebre del valle del Rift (*Phlebovirus*) a veces puede producir encefalitis.

Formas hemorrágicas

Están producidas por arbovirus que presentan una especial predilección por el sistema vascular y ocasionan hemorragias en la piel, mucosas y diversos órganos, a veces asociadas con cuadros de hipotensión y colapso, que son especialmente graves. En su mayoría pertenecen a los togavirus (*Flavivirus*) y menos veces a los bunyavirus (*Nairovirus* y *Phlebovirus*). Se pueden dividir en arbovirosis *transmitidas* por *mosquitos*, como la fiebre amarilla y dengue, o por *garrapatas*, como la fiebre de Kyasanur Forest, la fiebre hemorrágica de Omsk y la fiebre hemorrágica de Crimea y del Congo (tabla 60-5). La más importante es la fiebre amarilla.

Fiebre amarilla

El virus tiene un tamaño de 38 nm y presenta las propiedades generales de los togavirus. Cuando se aísla de los enfermos, es muy patógeno para el mono (*M. rhesus*), al que produce un cuadro febril con ictericia, hemorragias y muerte del animal a los pocos días (virus pantotropo o viscerotropo). Si se inocula por vía intracerebral al ratón, produce una encefalitis mortal sin lesiones hepáticas, que puede transmitirse por pases sucesivos de ratón a ratón hasta obtener un virus fijo neurotropo, que produce la muerte del ratón en 5 días; es el virus neurotropo, que, si se inocula por vía subcutánea al mono, produce fiebre y una fase de viremia, pero ha perdido la propiedad de producir lesiones en las vísceras. Por cultivo de una cepa pantotropa (cepa Asibi) en tejidos embrionarios de ratón y pollo y en huevo embrionado, se obtuvo después de más de 100 pases una mutante que había perdido su viscerotropismo y neurotropismo; es la cepa 17D utilizada para preparar la vacuna.

La fiebre amarilla es fundamentalmente una enfermedad enzoótica de los monos y marsupiales, que se transmite por diversas especies de mosquitos selváticos, que, en el Brasil, son del género *Hemagogus* y *Sabethes* y, en Africa, *Aedes simpsoni* (fiebre amarilla selvática). El virus sufre una parte de su ciclo en el mosquito (período de incubación externa), de manera que sólo al cabo de 12-14 días se hace infectante y puede transmitir la infección durante toda su vida.

El hombre se infecta accidentalmente cuando por motivo de su profesión (peones, taladores de árboles) se interna en la selva. De esta manera, la fiebre amarilla llega a las urbes (fiebre amarilla urbana), donde se infectan mosquitos domésticos, en especial *Aedes aegypti*, que transmite la infección de hombre a hombre y puede producir extensas epidemias. Se presenta exclusivamente en América y Africa tropical. Son de destacar la epidemia de Etiopía (1960) con más de 200.000 casos y las de Senegal (1965) y Nigeria (1969) con más de 10.000.

La fiebre amarilla constituye una típica infección bifásica. Una vez producido el contagio, el virus difunde al sistema linfático donde se multiplica; más tarde pasa a la sangre y se distribuye por las vísceras. Las cepas virulentas se encuentran en el hígado, riñón y bazo, donde producen lesiones que son las responsables de los casos graves. Son típicas las granulaciones hepáticas de Councilman, formaciones hialinas y eosinófilas producidas como consecuencia de la necrosis de varias células hepáticas. También se observa la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares eosinófilos (CI de Torres). La fiebre amarilla es una enfermedad cuarentenable de declaración internacional obligatoria a las autoridades sanitarias y a la OMS.

Tabla 60-5. Arbovirosis hemorrágicas

Virus y enfermedades	Familia y género o grupo	Reservorio	Vector	Distribución geográfica
	Togaviridae			
Fiebre amarilla	*Flavivirus*	Primates, hombre	*Aedes aegypti*, *Aedes* sp.	América y Africa tropical
Dengue (1, 2, 3 y 4)	*Flavivirus*	Hombre	*Aedes aegypti*	Universal
Fiebre hemorrágica de Omsk	*Flavivirus*	Roedores	*Dermacentor* sp.	Siberia
Fiebre de Kyasanur Forest	*Flavivirus*	Roedores, monos	*Haemaphysalis* sp.	India
	Bunyaviridae			
Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo	*Nairovirus* (grupo Congo)	Mamíferos, salvajes y domésticos	*Hyalomma* sp.	Asia y Africa
Fiebre del Valle del Rift	*Phlebovirus*	Mamíferos domésticos (carneros, cabras y camellos)	Mosquitos	Africa
	Reoviridae			
Fiebre por garrapatas del Colorado	*Orbivirus*	Roedores	*Dermacentor* sp.	Norteamérica

En el hombre, después de un período de incubación de 3-6 días, se presenta una fase de viremia de 15 días de duración con fiebre, cefalalgia, raquialgias (dolor en barra), conjuntivitis y fuertes dolores epigástricos, y le sigue una fase de remisión, en que el enfermo puede recuperarse o que puede ir seguida de reaparición de la fiebre (signo de Faget) y pasar a un período tóxico con hemorragias puntiformes en el paladar, epistaxis, hematemesis (vómito negro), ictericia y albuminuria, y una mortalidad elevada (10-15 %). También se observan formas menores, atípicas e inaparentes, que se demuestran por la presencia de anticuerpos en el suero de las personas que habitan en áreas endémicas.

Otras arbovirosis hemorrágicas

El virus del dengue también puede producir una forma hemorrágica grave, que puede llegar al shock y a la coagulación intravascular diseminada, especialmente frecuente en los países del Sudeste Asiático, donde en los últimos 25 años se han hospitalizado 350.000 casos con 12.000 defunciones. En estos casos, después de una primera fase con fiebre y exantema, le sigue una segunda fase con manifestaciones hemorrágicas, shock y una letalidad del 15 %. La observación de que este cuadro se presenta en niños menores de 1 año con anticuerpos maternos o en niños que habían sufrido recientemente una infección por otro serotipo de virus del dengue ha sugerido que la enfermedad sería producida por un mecanismo inmunológico. Se ha postulado que la unión del virus con los anticuerpos facilitaría la fijación de los complejos en el receptor Fc de los monocitos, su fagocitosis y la replicación del virus en los fagocitos. Posteriormente se produciría la activación del fagocito por un mecanismo no conocido (respuesta inmune, linfocitos T), lo que daría lugar a la liberación de factores de permeabilidad y tromboplastina y a la activación del complemento, que serían los responsables de las manifestaciones patológicas.

Entre los flavivirus transmitidos por garrapatas debe considerarse la fiebre hemorrágica de Omsk que se presenta en Rusia, reconoce como huéspedes naturales los roedores (rata almizclera) y se transmite por *Dermacentor marginatus*. En la fiebre de Kyasanur Forest, el virus infecta a monos y pequeños mamíferos y se transmite por garrapatas del género *Haemaphysalis;* la enfermedad se presenta en forma endémica y epidémica en la India, estado de Mysore, produciendo una fiebre hemorrágica de curso bifásico y mortalidad del 5 %.

Dentro de la familia *Bunyaviridae* se encuentra la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (género *Nairovirus*), que se presenta en algunos países europeos (Bulgaria, Yugoslavia), pero especialmente en Asia (URSS, Pakistán) y Africa (Congo) y es transmitida por garrapatas del género *Hyalomma*, y actúan como reservorios diversos mamíferos domésticos y salvajes. Produce un cuadro con fiebre, vómitos, hemorragias intestinales y una mortalidad variable (5-50 %). En los hospitales se han observado casos por contacto con sangre contaminada.

La fiebre del Valle del Rift (*Phlebovirus*) es fundamentalmente una infección de los animales (corderos, cabras, bóvidos, camellos) en diversas regiones de Africa (Sudán, Kenia, Uganda, Egipto, Africa del Sur), que afecta al hombre cuando por su profesión entra en contacto con la sangre de animales infectados (carniceros, cazadores, veterinarios), con una mortalidad del 10-15 %. Se considera transmitida por mosquitos. Recientemente se ha descrito una nueva entidad, la fiebre hemorrágica con síndrome renal, que se presenta en forma grave y endémica en la URSS y diversos países asiáticos (fiebre hemorrágica de Corea) o en forma más leve y epidémica (nefropatía epidémica) en los países escandinavos y que está producida por un nuevo virus (virus *Hantaan*) de la familia *Bunyaviridae*, que produce infecciones crónicas en los roedores.

Virus semejantes se han demostrado en los roedores de Estados Unidos, lo que indica que estas infecciones podrían estar muy difundidas.

Formas febriles

Son cuadros clínicos febriles asociados con algias y a veces exantemas, que pueden ser producidos por togavirus, bunyavirus y orbivirus.

Tabla 60-6. Arbovirosis febriles

Virus y enfermedades	Familia, género o grupo	Reservorio	Vector	Distribución geográfica
	Togaviridae			
Dengue (1, 2, 3 y 4)	*Flavivirus*	Hombre	*Aedes aegypti*	Universal
Fiebre del Nilo occidental	*Flavivirus*	Aves	*Culex* sp.	Africa, Asia
Sindbis	*Alphavirus*	Aves	*Culex* sp.	Universal
Complejo Chikungunya	*Alphavirus*	Monos, hombre	*Aedes* sp., *A. aegypti*	Asia, Africa, Australia
	Bunyaviridae			
Virus Tahyna	*Bunyavirus* (grupo California)	Roedores (caballos)	Mosquitos	Europa
Fiebre del Valle del Rift	*Phlebovirus*	Ovidos, bóvidos	*Aedes* sp.	Africa
Fiebre por *Phlebotomus*	*Phlebovirus*	Roedores	*P. papatasii*	Mediterráneo, Sudamérica, Panamá
	Reoviridae			
Fiebre por garrapatas del Colorado	*Orbivirus*	Roedores	*Dermacentor* sp.	Norteamérica

En su mayoría están transmitidos por mosquitos (dengue, fiebre del Nilo occidental, Sindbis, complejo Chikungunya, etc.) y pocas veces por flebotomos (fiebre por *Phlebotomus*) o garrapatas (fiebre del Colorado) (tabla 60-6).

Dengue

El virus del dengue es un flavivirus, del que se conocen cuatro serotipos (1, 2, 3 y 4). La enfermedad se caracteriza en que, después de un período de incubación de 6-8 días, se presenta fiebre con cefalalgia intensa y dolor retroorbitario asociado con mialgias y artralgias muy intensas. A los pocos días, la fiebre cede para reaparecer al día siguiente acompañada de un exantema maculopapuloso o escarlatiniforme, que dura 2-3 días. También pueden presentarse formas leves sin exantema.

El dengue es una enfermedad benigna y endémica en los climas cálidos y tropicales, más difundida que la fiebre amarilla y que se presenta en los países del Norte de Africa, Oriente Medio, la India y América Central. En Europa no se ha presentado después de la epidemia de Grecia de 1927. Su epidemiología es semejante a la de la fiebre amarilla; en el medio rural existe un ciclo de infección entre los monos y mosquitos selváticos (*Aedes albopictus*), de manera que, cuando se infecta el hombre, pueden adquirir la infección los mosquitos domésticos (*Aedes aegypti*) y establecer un nuevo ciclo de tipo urbano, que puede dar lugar a extensos brotes epidémicos.

Otras arbovirosis febriles

Por otra parte, se ha observado la aparición de cuadros febriles semejantes, producidos por otros arbovirus y transmitidos por diversos vectores.

Transmitidas por mosquitos. Son las más numerosas. Pueden ser producidas por togavirus (*Alphavirus* o flavivirus) y bunyavirus (*Bunyavirus* o *Phlebovirus*).

Entre los alfavirus pueden distinguirse el virus Sindbis, muy difundido en Africa, Asia, Europa Oriental y Australia, y el complejo Chikungunya, grupo de virus relacionados antigénicamente, que producen extensas epidemias de cuadros semejantes al dengue en Africa, India y Sudeste Asiático (virus Chikungunya), en Africa (virus O'nyong-nyong), Sudamérica (virus Mayaro) e incluso en Australia, donde el virus Ross River produce epidemias de poliartritis febril.

Entre los flavivirus, el más importante es el virus del Nilo occidental, que produce un cuadro febril benigno con infartos ganglionares, mialgias y un exantema maculopapuloso fugaz, muy parecido al dengue. Se encuentra muy difundido en Egipto, en los países de Oriente Medio y en la India, donde la mayoría de los niños presentan anticuerpos en el suero, y por su relación antigénica se supone que es la causa de la ausencia de arbovirosis encefalíticas en estos países. Se ha encontrado en Francia en el Delta del Ródano y región de la Camargue, produciendo infecciones en los caballos y en el hombre (gripes de verano), y en España se ha detectado en encuestas serológicas en la zona de Levante.

Entre los bunyavirus transmitidos por mosquitos deben incluirse los virus del grupo C, constituido por virus aislados de monos, mosquitos y del hombre, principalmente en el Brasil, que se encuentran en América Central y del Sur; el virus Tahyna del grupo California, que produce infecciones en Europa y en España se ha detectado en la zona de Levante, y los virus del grupo *Bunyamwera* se han demostrado en Africa, América del Sur y Panamá.

Transmitidas por flebotomos. El virus de la fiebre por *Phlebotomus* (tipos Nápoles y Sicilia) es un bunyavirus (*Phlebovirus*), que produce un cuadro de corta duración, caracterizado por fiebre, cefalalgia, náuseas y vómitos con ligera rigidez de nuca, que cede espontáneamente. En las zonas endémicas, la enfermedad se presenta en la infancia, y se demuestra que el 50-70 % de la población muestra anticuerpos en el suero; la inmunidad es tipoespecífica. Se transmite por mosquitos de la especie *Phlebotomus papatasii* y se presenta en Asia, Africa y países mediterráneos.

Transmitidas por garrapatas. La fiebre por garrapatas del Colorado (*Orbivirus*) es una afección febril sin exantema, cuyo reservorio está constituido por pequeños roedores (ardillas, puercoespines), transmitida por la garrapata *Dermacentor andersoni* y que se presenta en las zonas monta-

ñosas del nordeste de Estados Unidos entre las personas que se internan en los bosques por motivos profesionales o turísticos.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico se realiza por aislamiento del virus o mediante serología. El aislamiento se debe efectuar a partir de la sangre durante los primeros días de la enfermedad (fase de viremia), y también del sistema nervioso y vísceras en los casos mortales. Por regla general se obtiene una muestra de sangre en los 2-4 primeros días, que se emplea para aislar el virus y como suero precoz en las reacciones serológicas.

La inoculación del ratón lactante por vía intracerebral es el método de elección. Se produce un cuadro de meningoencefalitis, aunque algunas veces es necesario efectuar pases ciegos antes de obtener inoculaciones positivas. Los virus de las encefalitis equinas, además, son patógenos para el cobayo y conejo. Se desarrollan en general en cultivos de células primarias (células de riñón de mono, fibroblastos de embrión de pollo), pero también en células adaptadas de riñón de mono (Vero), riñón de hámster (BHK-21) o de riñón de cerdo (PK). Una vez aislado el virus, se reconoce por su sensibilidad al éter y al desoxicolato; el grupo antigénico y el tipo de virus se determinan por reacciones serológicas frente a sueros polivalentes y tipoespecíficos. En los casos mortales de fiebre amarilla se efectúa el diagnóstico por biopsia hepática con el viscerotomo de Biao y demostración de las granulaciones de Councilman.

El diagnóstico serológico se efectúa por la demostración de un aumento significativo del título de anticuerpos en dos muestras de suero (sueros precoz y tardío) frente a los arbovirus aislados en la zona. Se pueden practicar reacciones de inhibición de la hemaglutinación, fijación del complemento, neutralización, inmunofluorescencia y ELISA. La primera sólo permite conocer el grupo antigénico del virus causal; para identificar el virus, se recurre a la RFC, que es positiva durante los primeros 6 meses, o a la reacción de neutralización, que persiste a título elevado durante mucho tiempo y se emplea para el diagnóstico retrospectivo y encuestas epidemiológicas. Al practicar estas pruebas, hay que tener en cuenta que se producen con frecuencia reacciones cruzadas con los demás virus del grupo. Aunque, en general, el título más elevado corresponde al virus causal, en las zonas tropicales, donde son frecuentes las infecciones por diversos arbovirus, es muy difícil, en las infecciones secundarias, llegar a conocer el virus causal. En estos casos, la determinación de las IgM específicas puede resolver el problema. En las zonas donde sólo circulan uno o dos tipos de arbovirus, la serología puede ser determinante.

La RFC en la fiebre amarilla es negativa en los vacunados y casos leves, y se emplea sólo para el diagnóstico de los casos graves.

TRATAMIENTO

No existe tratamiento específico; sin embargo, la administración de suero específico durante el período de incubación puede evitar la aparición de cuadros encefálicos o viscerales.

PROFILAXIS

La profilaxis se orienta a la lucha contra los animales reservorio (ratas, roedores), de difícil aplicación, y contra el insecto vector mediante la desinsectación, que ha logrado grandes éxitos en la prevención de las arbovirosis transmitidas por mosquitos (fiebre amarilla, encefalitis de San Luis); por el contrario, la lucha contra las garrapatas y ácaros sobre todo en las zonas boscosas es poco satisfactoria. Las medidas de protección de la población mediante vacunas para algunas arbovirosis han constituido un extraordinario éxito.

Vacunas

La vacuna de la fiebre amarilla se prepara a partir de la cepa 17 D, mutante de la cepa pantotropa Asibi, que ha perdido su viscerotropismo y la mayor parte de su neurotropismo. Se cultiva en embrión de pollo, se conserva por liofilización y se administra por vía subcutánea, a partir de los 9 meses de edad. Produce la aparición de anticuerpos neutralizantes a partir de los 10 días y la inmunidad dura como mínimo 6 años. En las zonas endémicas es conveniente practicar revacunaciones periódicas cada 10 años. La vacunación es obligatoria para las personas que deben residir en una zona endémica o viajar por ella.

La vacuna 17 D puede producir alergia a la albúmina de huevo y reacciones en las personas hipersensibles. Ha producido numerosos casos de hepatitis sérica, como consecuencia del suero humano inmune que se añadía a la vacuna para atenuarla y cuya supresión ha eliminado estos casos. La complicación más grave es la meningoencefalitis, que se presenta muy rara vez, especialmente en los niños menores de 9 meses. Hay que tener en cuenta que, a causa de la sensibilidad del virus al calor, debe conservarse a –25 °C al abrigo de la luz (a 4 °C tiene un plazo de validez de 3 meses) y, una vez reconstituida, administrarse inmediatamente (1 hora).

También se han preparado vacunas inactivadas por formol con los virus de las encefalitis equinas y una vacuna atenuada con el virus de la encefalitis equina de Venezuela, que se han utilizado en la protección de los caballos y de las personas expuestas al contagio. Asimismo se han obtenido vacunas inactivadas frente a la encefalitis japonesa, que se han empleado en gran escala para la protección de la población infantil, frente a la encefalitis por garrapatas para la protección del personal de laboratorio (Europa, URSS) y también frente a la fiebre del Valle del Rift para evitar la enfermedad en el hombre y los animales domésticos.

BIBLIOGRAFIA

Berge, T. O.: International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. D.H.E.W. Publ. n.º (CDC) 75-8301, 1975.

Casals, J., y Reeves, W. C.: Arthropod-borne animal viruses. En Rivers, T. M., y Horsfall, F. L. (dirs.): Viral and Rickettsial Infections of Man. Pittman, London, 1959.

Schlesinger, R. W. (dir.): The togaviruses. Academic Press, New York. 1980.

Shope, R. E.: Arbovirus. En E. H. Lennette, E. H. Spaulding y J. P. Truant (dirs.): Manual of Clinical Microbiology, 2.ª ed. Ann. Soc. Microbiol., Washington, 1974.

Capítulo 61

Arenavirus, virus Marburg y Ebola

Agustín Pumarola

Arenavirus

CONCEPTO GENERAL Y CLASIFICACION

La familia *Arenaviridae* está constituida por virus esféricos o pleomorfos, de 50 a 300 nm de diámetro (media de 110-130 nm), compuestos por una envoltura cubierta de proyecciones de 10 nm, en forma de maza, que no presentan actividad de hemaglutinina. En su interior se observa la presencia de 2 a 10 gránulos densos de 20-25 nm de diámetro, probablemente ribosomas de la célula huésped unidos entre sí por finos filamentos, que les comunican un aspecto arenoso característico (fig. 61-1).

Contienen un ácido ribonucleico monocatenario con polaridad negativa, asociado con moléculas de nucleoproteína y de polimerasa, que se encuentra dividido en cuatro fragmentos, dos específicos del virus (L y S) y los restantes procedentes de la célula huésped.

Son virus relativamente lábiles, que se inactivan por el calor (56 °C), el éter y los ácidos (pH 6) y que se desarrollan en cultivos celulares (Vero) con alteraciones citopáticas discretas, produciendo una infección persistente. Presentan antígenos comunes asociados con las nucleoproteínas internas, que se demuestran por reacciones de FC y de IF, que han permitido definir el complejo Tacaribe, y antígenos específicos asociados con las glicoproteínas de las proyecciones, que se demuestran por reacciones de neutralización.

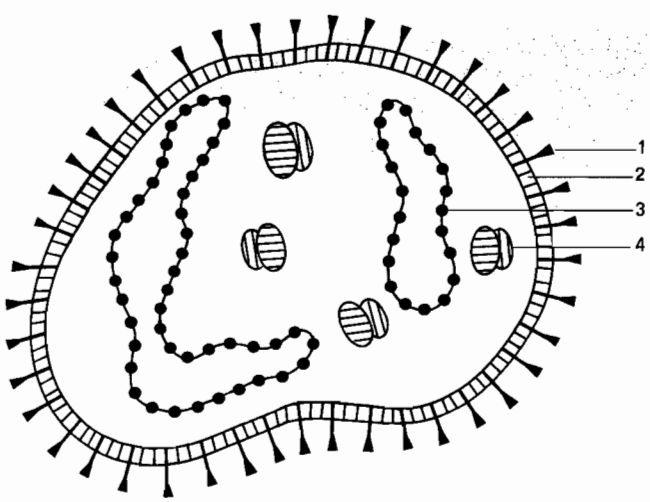


Fig. 61-1. Arenavirus. 1) Proyecciones lipoproteicas. 2) Envoltura lipídica. 3) Nucleocápside. 4) Ribosomas.

Son parásitos fundamentales de los roedores, que los transmiten a la descendencia (transmisión vertical), dando lugar a infecciones persistentes con insuficiente respuesta inmune del huésped (infecciones toleradas), caracterizadas por la existencia de un período de viremia y viruria prolongado (portadores crónicos).

Producen por lo general infecciones inaparentes o benignas, pero también pueden presentarse formas hemorrágicas muy graves, y los artrópodos no intervienen en su transmisión. El hombre se infecta cuando ocasionalmente entra en contacto con el reservorio o sus productos infectados, especialmente por aerosol, y es rara la transmisión de persona a persona (fiebre de Lassa).

Se conoce un género, *Arenavirus*, compuesto por 13 especies que comprenden el virus de la coriomeningitis linfocitaria, el virus de la fiebre de Lassa y el complejo Tacaribe, que a su vez está integrado por 8 especies, de las cuales el virus Junin (fiebre hemorrágica argentina) y el virus Machupo (fiebre hemorrágica boliviana) son las más importantes.

VIRUS DE LA CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA

Es un virus parásito de los roedores, especialmente del ratón casero *Mus musculus*, que se encuentra infectado en forma focal en diversos países de Europa y América, y se ha aislado también en las colonias de ratones de laboratorio y en los hámsters *(Cricetus auratus)*.

En los ratones, el resultado de la infección depende de la edad. Cuando se produce una infección congénita, como ocurre en las colonias de ratones (transmisión vertical), o se inoculan ratones recién nacidos antes de la maduración del sistema inmunitario, por lo general no se presenta la enfermedad, pero el ratón queda portador crónico con eliminación del virus por la orina y la leche, infección que persiste durante toda la vida del animal. En estos casos no se de-

muestra la presencia de anticuerpos libres en la sangre, pero se producen pequeñas cantidades de anticuerpos, que forman complejos con el virus y el complemento, sin que éste pierda su carácter infeccioso (tolerancia inmunológica parcial), complejos que circulan por la sangre, se depositan en el glomérulo y al cabo de mucho tiempo pueden producir una glomerulonefritis crónica. Cuando se infectan o inoculan ratones adultos libres de infección, se produce una infección aguda, que puede seguir un curso severo muchas veces fatal o de la cual el animal puede recuperarse. Por inoculación intracerebral se producen espasmos del tren posterior, temblores y convulsiones, generalmente seguidos de la muerte del animal.

El hombre se infecta cuando de forma accidental o esporádica entra en contacto con estos animales (ratones, hámsters) o con productos contaminados por la orina (alimentos, objetos) e incluso inhala partículas en suspensión en el aire (aerosol); presentan un riesgo mayor los cuidadores de animales y el personal de laboratorio.

La enfermedad puede adoptar una *forma gripal* con fiebre, cefalalgia y mialgias, que a veces puede ir acompañada de artralgias y orquitis. Es el cuadro más frecuente y que por lo general pasa inadvertido. En algunos casos, después de una breve remisión se puede presentar un cuadro de *meningitis aséptica*. A este respecto es interesante destacar que este virus fue el primero que se aisló de cuadros de meningitis con líquido claro y pleocitosis linfocitaria, de ahí el nombre de virus de la coriomeningitis linfocitaria, síndrome que más tarde se demostró que en su gran mayoría era producido por otros virus (enterovirus, virus de la parotiditis, herpes). Por último, puede también producir formas graves de enc*efalomielitis*.

Sin embargo, el mayor número de infecciones son inaparentes, pues por encuestas serológicas se ha demostrado que aproximadamente el 20 % de la población presenta anticuerpos en su suero.

El diagnóstico se efectúa por inoculación intracerebral de ratones adultos libres de infección o inoculación de células Vero, con sangre o LCR obtenidos durante la primera semana de la enfermedad, o por la demostración de un aumento del título de anticuerpos en sueros pares, mediante reacciones de inmunofluorescencia indirecta o de FC cuando se efectúan pruebas en batería para el diagnóstico de las meningitis asépticas.

VIRUS DE LA FIEBRE DE LASSA

Es un virus de los roedores, que afecta sobre todo a la especie *Mastomys natalensis* y produce infecciones toleradas, caracterizadas por una viremia prolongada con eliminación del virus por la saliva, orina y heces, responsables de la difusión de la infección en la naturaleza.

El hombre se infecta cuando ocasionalmente entra en contacto con roedores infectados o sus productos, lo que se ha descrito en diversos países de Africa Occidental (Nigeria, Liberia y Sierra Leona). A diferencia de las demás especies, el virus difunde fácilmente de persona a persona, lo que explica el alto riesgo del personal sanitario asistencial. La enfermedad fue descrita por vez primera en tres enfermeras de un hospital de Nigeria y posteriormente se han observado pequeños brotes intrahospitalarios y en el personal de laboratorio en Estados Unidos, demostrando la extraordinaria infecciosidad de las muestras obtenidas de los enfermos y la necesidad de adoptar medidas especiales de seguridad en la manipulación y tratamiento de los enfermos o sus productos.

Se presenta un cuadro febril con manifestaciones hemorrágicas y progresiva afectación de diversos órganos que produce una mortalidad elevada (30-70 %). La enfermedad se inicia con manifestaciones inespecíficas del tipo de escalofríos, fiebre, cefalalgias, mialgias y diarrea. En muchos casos se presenta una intensa faringitis con disfagia, tos, vómitos y fiebre elevada, seguida de una erupción maculopetequial en la cara, tronco y brazos, y pueden presentarse, además, signos de neumonitis, miocarditis y, en los casos graves, un cuadro de colapso vascular con mortalidad elevada.

También se presentan formas leves, y las encuestas serológicas han demostrado que la infección está extendida en muchos países de Africa Occidental.

El diagnóstico se puede efectuar por aislamiento del virus de los productos del enfermo (suero, lavados faríngeos, orina, exudados), que deben ser manipulados en condiciones de máxima seguridad (Center for Disease Control, EE.UU., y Porton, Down, Inglaterra). Los ratones recién nacidos son los más sensibles, pero la enfermedad sólo se produce por inoculación de ratones adultos. El virus se desarrolla en cultivos celulares (Vero), produciendo alteraciones citopáticas discretas, que se pueden detectar en las células infectadas por inmunofluorescencia directa con anticuerpos policlonales o monoclonales. Se puede demostrar una elevación del título de anticuerpos por inmunofluorescencia (2 semanas) o por ELISA. Se acostumbra practicar una IF frente al antígeno del nucleocápside, que por lo general produce reacciones cruzadas frente a la mayoría de virus. Con los sueros positivos se practica una RN o ELISA, prefiriéndose esta última por ser más precoz.

VIRUS DE LAS FIEBRES HEMORRAGICAS ARGENTINA Y BOLIVIANA

Forman parte del complejo Tacaribe. El virus Junin fue aislado en 1950 y se ha encontrado en pequeños roedores del campo del género *Calomys*, generalmente *Calomys musculinus* y *Calomys laucha*, que eliminan el virus por la orina y afectan con preferencia a los trabajadores del campo, los cuales se infectan cuando en el curso de su trabajo, especialmente durante la recolección del maíz, se producen pequeñas heridas o excoriaciones, que constituyen la puerta de entrada del virus (mal de los rastrojos). También puede producirse la infección por inhalación y consumo de agua o alimentos contaminados.

La enfermedad se presenta en forma endémica y a veces epidémica en una zona limitada al noroeste de Buenos Aires, en las provincias de Santa Fe, La Pampa y Córdoba. El período de incubación es de 10-15 días, y la enfermedad se inicia lentamente con fiebre, astenia, malestar, cefalalgia, mialgias y trastornos digestivos, que aumentan progresivamente, y se observa un enantema rojo vinoso en el velo del paladar y una erupción petequial. En el período de estado pueden aparecer hemorragias diversas (epistaxis, gingivorragias, hemoptisis, hematemesis, melenas); otras veces, el cuadro vascular puede ser menos aparatoso y sobresalir el componente neurológico con excitación, convulsiones y de-

lirio, que semeja una encefalitis. Se puede producir afectación renal y un cuadro de shock con hipotensión, bradicardia, leucopenia y trombopenia, con una mortalidad del 10-20 %. Es un virus poco contagioso con escaso riesgo de casos secundarios.

El virus Machupo es el agente causal de la fiebre hemorrágica boliviana. Se conoce desde 1955, cuando se presentó en forma epidémica en el departamento de El Beni (Bolivia). El reservorio es un ratón del campo de la especie *Calomys callosus*, que presenta una infección tolerada con eliminación del virus por la orina durante largo tiempo y habita en las granjas en estrecha relación con el hombre y en los poblados rurales. La infección se produce por contacto con el reservorio o sus productos contaminados, lo que explica que se presente con mayor frecuencia en aquellas personas que viven en condiciones higiénicas y económico-sociales deficitarias. El período de incubación es de 8-15 días y el cuadro clínico hemorrágico es semejante al anterior, con una mortalidad del 5-30 %. Es menos contagioso que el virus de la fiebre de Lassa y más que el virus Junin, y produce pocos casos secundarios por contacto.

El diagnóstico se efectúa por aislamiento del virus de la sangre, de lavados faríngeos y menos veces de la orina obtenida en los primeros días de la enfermedad, por inoculación en animales (ratón, hámster recién nacido) y cultivos celulares (Vero), o por métodos serológicos, reacción de IF y neutralización, demostrando una seroconversión en sueros pares.

La profilaxis se basa en medidas de control de los roedores, que muchas veces son aleatorias. Sería de desear la obtención de una vacuna eficaz, que está en estudio (cepas atenuadas de virus Junin y virus Lassa).

VIRUS MARBURG Y EBOLA (FILOVIRIDAE)

Son virus que producen cuadros hemorrágicos muy graves, de los que se desconoce en gran parte sus características y epidemiología, y recientemente se ha propuesto su inclusión en la nueva familia *Filoviridae*.

La familia *Filoviridae* está constituida por virus pleomorfos, de estructura cilíndrica, que se presentan en forma de filamentos de diámetro uniforme (80 nm) y longitud variable, por lo general de 800-1.000 nm, adoptando formas en U, en 6 de guarismo o circular, pero que pueden alcanzar hasta 14.000 nm.

Están compuestos por una envoltura derivada de la membrana citoplásmica de la célula, cubierta de proyecciones glicoproteicas, y una parte central constituida por un nucleocápside de simetría helicoidal y diámetro probable de 20 nm, que contiene un ARN monocatenario, de polaridad negativa, asociado con moléculas de polimerasa. Se inactivan por el calor (60 °C, 30 min), radiaciones, disolventes de los lípidos, hipocloritos y derivados fenólicos.

Se desarrollan en células Vero donde producen alteraciones citopáticas discretas y la presencia de cuerpos de inclusión citoplásmicos constituidos por la acumulación de nucleocápsides, que se pueden demostrar por microscopia e inmunofluorescencia directa.

Poco se conoce sobre la epidemiología de estas infecciones. Por encuestas serológicas (IF) se ha podido demostrar que el 18 % de la población en Africa Central han sufrido la infección, pero, por el contrario, los estudios efectuados en monos, animales salvajes y domésticos, así como en artrópodos, han dado resultado negativo.

Se considera que la infección se transmite por contacto directo de persona a persona, siendo frecuente en los hospitales por contacto con sangre, suero o productos del enfermo.

Dada su elevada contagiosidad y letalidad, se deben tomar las máximas precauciones de seguridad en la asistencia de los enfermos, y las muestras para el diagnóstico deben remitirse a los laboratorios de alta seguridad, como los de Atlanta (EE.UU.), Porton Down (Inglaterra), Amberes (Bélgica) y Pergamino (Argentina), entre otros.

Virus Marburg

Es un virus de 790 × 80 nm, patógeno para los monos, a los que produce un cuadro febril con una erupción petequial y hemorragias diversas, que suele ser mortal. Por el contrario, en el cobayo produce un proceso febril inespecífico y benigno. No se conocen los reservorios naturales del virus, ya que los monos se consideran huéspedes accidentales.

En el hombre, después de un período de incubación de 3-8 días, la enfermedad se manifiesta por cefalalgia, mialgias, fiebre elevada y malestar, seguidos de náuseas, vómitos, diarrea y faringitis. A los 4-5 días aparece un exantema maculopapuloso o vesicular y manifestaciones hemorrágicas diversas con hepatitis y signos de coagulación intravascular diseminada, que producen la muerte a los 5-10 días del comienzo.

En 1967 se detectaron 31 casos, en su mayoría en la población alemana de Marburg, entre las personas que trabajaban en un laboratorio de preparación de vacuna antipoliomielítica y habían manipulado sangre y tejidos de un lote de monos africanos (*C. aethiops*) procedentes de Uganda. Los casos primarios fueron por lo general graves, pero, además, se produjeron casos secundarios más benignos. Posteriormente se han descrito casos esporádicos mortales en Unión Sudafricana (1975), Kenya (1980) y Zimbabwe (1982). El primero en una persona que había viajado por Rodesia y que contagió a su acompañante y a la enfermera que lo asistió en el hospital.

El virus se encuentra en la sangre durante la fase aguda de la enfermedad. Las muestras deben remitirse con las máximas precauciones para el aislamiento del virus. Deben inocularse cultivos de células Vero, donde se puede demostrar la aparición de los típicos cuerpos de inclusión y observar el virus por microscopia electrónica. También puede demostrarse en sueros pares un aumento del título de anticuerpos por IF indirecta, RIA y ELISA.

Virus Ebola

Es un virus de morfología semejante, aunque de mayor tamaño (970 × 80 nm). Fue aislado, en 1976, a partir de un caso de fiebre hemorrágica epidémica en Africa Central y ha producido numerosos casos en el Zaire y Sudán. Ha tomado el nombre de un río del Zaire y en la actualidad se conocen dos subtipos, EBO-Z (Zaire) y EBO-S (Sudán), que presentan diferencias antigénicas, que se pueden demostrar por RIA.

Se han descrito epidemias en el Sudán (300 casos), con un cuadro clínico semejante al producido por el virus Marburg, aunque quizá con los síntomas respiratorios más acentuados y un 50 % de mortalidad. Se caracterizan por su contagiosidad, y se producen casos secundarios entre los contactos familiares y personal asistencial. En el Zaire se ha detectado la infección en 43 poblados y registrado 237 casos con 211 defunciones.

No se conoce cómo se elimina el virus ni su mecanismo de transmisión. Parece que el contacto con sangre es importante sobre todo a través de heridas, lesiones en la piel o instrumentos, de ahí la frecuencia de infecciones en el personal hospitalario.

El diagnóstico se efectúa por observación directa del virus en la sangre durante la fase febril (ME o MEI) o *post mortem* en cortes de hígado.

El aislamiento se realiza por inoculación en células Vero, donde se detectan los típicos cuerpos de inclusión. Para el diagnóstico serológico se utilizan las reacciones de IF indirecta, ELISA o RIA.

BIBLIOGRAFIA

Bowen, E. T. W.; Lloyd, G.; Harris, W. J.; Platt, G. S.; Baskerville, A., y Vella, E. E.: Viral haemorragic fever in southern Sudan and northern Zaire. Lancet, 1, 571, 1977.

Casals, J., y Buckley, S. M.: Lassa fever. Progr. Med. Virol., 18, 111-116, 1974.

Gajdusek, D. C.: Virus haemorragic fevers. J. Pediatr., 60, 841-847, 1962.

Gear, J. S. S.; Cassel, G. A.; Gear, A. J., y cols.: Outbreak of Marburg virus disease in Johannesburg. Br. Med. J., 1, 489-591, 1975.

Murphy, F. A.: Arenoviruses: diagnosis of limphocytic choriomeningitis, Lassa fever and other arenoviral infections. En Kurstak, E., y Kurstak, C. (dirs.): Comparative diagnosis of viraldiseases. Academic Press, New York, 1977.

Capítulo 62

Orthomyxovirus

Agustín Pumarola

CONCEPTO

Los mixovirus son virus de tamaño medio y forma esferoidal, constituidos por una envoltura de naturaleza lipoproteica, cubierta de proyecciones, y un nucleocápside flexible, en forma de tubo, compuesto por ribonucleoproteínas con simetría helicoidal.

Los lípidos de la envoltura hacen que los virus sean muy sensibles al éter y a los agentes externos, y las proyecciones presentan la propiedad de aglutinar los hematíes de diversas especies de animales y aves (hemaglutinación).

El nombre de mixovirus deriva de su afinidad por la mucina, mucoproteína que se encuentra en el moco y líquidos orgánicos (suero sanguíneo), así como en los receptores de la membrana de las células epiteliales y de los hematíes, responsables del fenómeno de hemaglutinación y hemadsorción.

Los mixovirus incluyen las familias *Orthomyxoviridae* y *Paramyxoviridae*, cuyas características diferenciales y clasificación se exponen en las tablas 62-1 y 62-2.

La familia *Orthomyxoviridae* comprende los virus de la gripe humana. Se conoce un género *Influenzavirus* con dos especies *Influenzavirus tipo A* y *tipo B*, y un posible nuevo género, *Influenzavirus tipo C*. Pero, además, existen virus que afectan a los animales y aves, que son responsables de la gripe porcina, equina, de las focas, de los pavos, de los patos y de las gallinas (peste aviar) y que se encuentran relacionados con el tipo A.

MORFOLOGIA, ESTRUCTURA Y FUNCION

El virión presenta en general una forma esférica, de 80-120 nm de diámetro, pero a veces adopta una forma alargada de hasta 400 nm, sobre todo en los virus recién aislados (figs. 62-1 a 62-3). Está compuesto de una envoltura cubierta de proyecciones, que recubre un nucleocápside segmentado de simetría helicoidal.

1. *La envoltura* presenta dos capas: una *capa externa*, de naturaleza lipídica (bicapa lipídica), derivada de la membrana citoplásmica de la célula huésped, y una *capa interna*, constituida por una proteína de información viral, de bajo peso molecular, que representa el 33 % de todas las proteínas y comunica estabilidad al virión. Es la proteína matriz o M.
2. *Las proyecciones* están constituidas por polímeros de glicoproteínas, y existen dos clases de glicoproteínas, que presentan actividad de hemaglutinina o de neuraminidasa.

Tabla 62-1. Orthomyxoviridae y Paramyxoviridae: características diferenciales

	Orthomyxoviridae	*Paramyxoviridae*
Virión		
Forma y tamaño	Esférica, 80-120 nm Filamentosa, 80-120 × 400 nm	Esférica (pleomorfa), 125-250 nm Filamentosa, a veces
Membrana y proyecciones		
Hemaglutinina y neuraminidasa separadas	Sí	No
Hemolisina	No	Sí
Variabilidad antigénica	Sí	No
Nucleocápside		
Diámetro	9 nm	14-18 nm
Genoma segmentado	Sí (8)	No
Célula infectada		
Localización del nucleocápside	Núcleo	Citoplasma
Inclusiones citoplásmicas	No	Sí
Formación de sincitios	No	Sí

Tabla 62-2. Orthomyxoviridae y Paramyxoviridae: clasificación

Familias	Géneros	Especies
Orthomyxoviridae	*Influenzavirus*	*Influenzavirus* tipo A *Influenzavirus* tipo B
	Influenzavirus tipo C (género probable)	
Paramyxoviridae	*Paramyxovirus*	Virus parainfluenza tipos 1, 2, 3, 4 y 5 Virus de la parotiditis
	Morbillivirus	Virus del sarampión
	Pneumovirus	Virus respiratorio sincitial

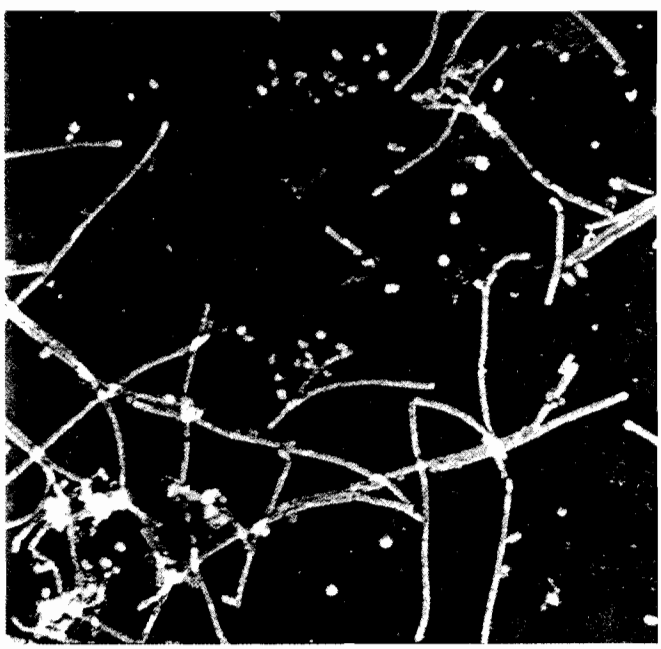


Fig. 62-1. Virus de la gripe. Partículas esféricas y filamentosas. Microfotografía electrónica por sombreado metálico (× 10.400). (Chappin, P. W., y cols.: J. Exp. Med., 112, 945, 1960.)

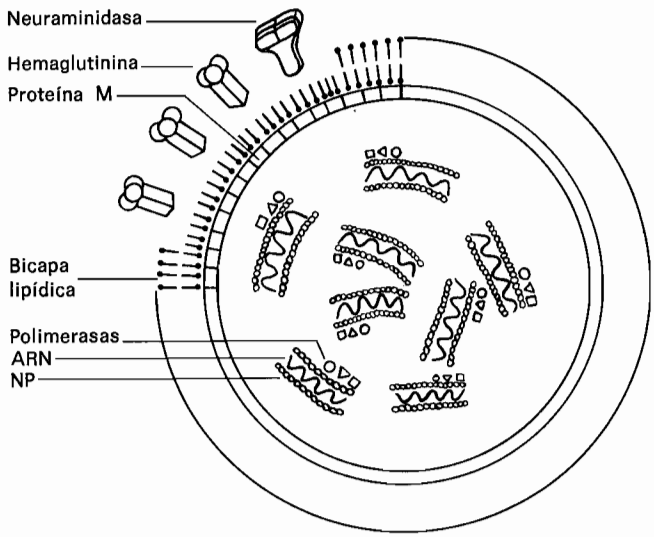


Fig. 62-2. Virus de la gripe. Modelo esquemático. (Modificado de Dulbecco, R., y Ginsberg, M. S.: Microbiology, 3.ª ed., Davis, B. D., y cols. Harper and Row, 1980.)

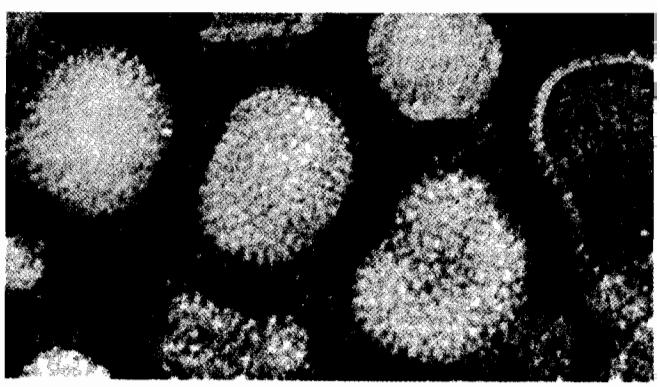


Fig. 62-3 Virus de la gripe. Microfotografía electrónica por tinción negativa (× 300.000), que demuestra las proyecciones de la membrana. (Hoyle: Influenzavirus. Springer, 1968. Microfotografía de J. Almeida y A.P. Waterson.)

Las proyecciones de *hemaglutinina* (HA), en número aproximado de 1.000 por virión, tienen una forma alargada de sección triangular (1.4 × 4 nm), con la extremidad libre de forma globular. Están constituidas por 3 polipéptidos (trímero) y cada polipéptido se descompone a su vez en dos subunidades HA1 y HA2, de PM 50.000 y 25.000, respectivamente. Por la extremidad hidrófoba (HA2) se unen a la capa lipídica de la envoltura y por su extremidad hidrófila (HA1) presentan la propiedad de fijarse en los receptores mucoproteicos de los hematíes y de las células del epitelio respiratorio, y son responsables del fenómeno de hemaglutinación y de la fijación del virus a las células, primer paso para su penetración y replicación. Como, además, la hemaglutinina se encuentra en la membrana de las células infectadas de los cultivos celulares, también es responsable del fenómeno de hemadsorción. Por métodos de difracción por rayos X se ha podido determinar la ultraestructura de la hemaglutinina, que está constituida por una región alargada compuesta por HA2 y parte de HA1 y una región globular más externa constituida por HA1. En esta zona mediante anticuerpos monoclonales se han podido identificar 4 grupos determinantes que son variables (fig. 62-4).

Las proyecciones de *neuraminidasa* (NA) son menos frecuentes (± 200) y tienen forma de seta o champiñón, y están compuestas por una cabeza (8 × 5 nm) y un filamento (10 nm). La cabeza está constituida por la asociación de 4 glicopéptidos (tetrámero), que presentan actividad fermentativa, pues, al actuar sobre el ácido N-acetilneuramínico o ácido siálico, principal componente de los receptores celulares, los destruye, produciendo el fenómeno de la elución o separación del virus de los glóbulos rojos, y, además, interviene en la liberación del virus de las células infectadas, evitando su agregación en la superficie de la célula, lo que está relacionado con su capacidad infectiva.

El nucleocápside presenta simetría helicoidal, en forma de un tubo flexible de 9 nm de diámetro, dividido en 8 segmentos que están constituidos cada uno por una molécula de ARN monocatenario con polaridad negativa, asociado con múlti-

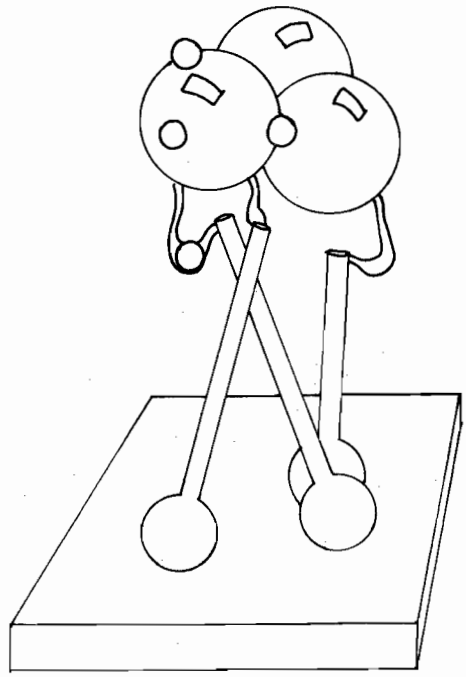


Fig. 62-4. Esquema de una espícula de hemaglutinina (según Wilson, Skehel y Wiley, 1981). ○ Determinantes antigénicos variables. □ Areas de fijación.

ples moléculas de una misma nucleoproteína (NP) y una o más moléculas de polimerasa o transcriptasa (P1, P2 y P3), que codifican 10 proteínas, de las cuales 7 constituyen antígenos estructurales del virión (HA, NA, M1, NP, P1, P2 y P3) y 3 antígenos no estructurales (M2, NS1 y NS2) que se encuentran en las células infectadas (tabla 62-3). El nucleocápside no presenta carácter infeccioso. Esta estructura fragmentada explica su labilidad genética y la facilidad con que se producen reagrupaciones genómicas (*genetic reassortment*).

El tipo C presenta un genoma dividido en 4-5 fragmentos y en las proyecciones, un fermento que destruye el receptor celular, distinto de la neuraminidasa.

Tabla 62-3. Virus de la gripe. Composición del virus. Electroforesis en gel de poliacrilamida

Segmentos ARN	Proteína codificada	Función
1	PB2 (P3)	Transcriptasa. Síntesis de ARN +
2	PB1 (P1)	Transcriptasa. Síntesis de ARN +
3	PA (P2)	Transcriptasa. Síntesis de ARN –
4	HA (HA1, HA2)	Adhesina. Fijación al receptor celular
5	NP	Ordenación helicoidal. Síntesis de ARN –
6	NA	Enzima que descompone el ácido siálico y libera el virus del receptor
7	M1, M2	Maduración y liberación del virus (M1) Proteína no estructural (M2)
8	NS1, NS2	Proteínas no estructurales Función desconocida

ESTRUCTURA ANTIGENICA Y CLASIFICACION

El virus gripal presenta dos clases de antígenos:

Antígenos profundos o internos

Están constituidos por la proteína M y la nucleoproteína NP, que por extracción forman el antígeno soluble. Son antígenos relativamente estables, que presentan especificidad de tipo. Inducen la aparición de anticuerpos no protectores que se demuestran por reacciones de fijación del complemento y de inmunodifusión.

Antígenos superficiales

Están constituidos por la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). Cada uno está compuesto por diversos antígenos o factores antigénicos, que según su especificidad pueden dividirse en dos clases, antígenos específicos del subtipo, comunes en todas las cepas del subtipo, y antígenos específicos de cepa que permiten dividir los subtipos en cepas. Son antígenos inestables que pueden dar lugar a variaciones antigénicas mayores o menores, las cuales se demuestran por reacciones de inhibición de la hemaglutinación y de la actividad neuraminidásica. La hemaglutinina es el antígeno protector por excelencia, pues induce la aparición de anticuerpos neutralizantes, que inhiben la fijación del virus y, por tanto, la infección; los anticuerpos frente a la neuraminidasa, por el contrario, no neutralizan el virus ni evitan la infección, pero reducen la infecciosidad del virus y su difusión a otras células del epitelio respiratorio, disminuyendo la gravedad y la eliminación de virus al exterior.

Clasificación

El sistema de clasificación se basa en dividir los virus gripales por sus antígenos profundos en tres tipos antigénicos A, B y C y en subdividir el tipo A por sus antígenos superficiales comunes en subtipos y éstos, a su vez, por sus antígenos específicos de cepa en cepas o variantes antigénicas (tabla 62-4). Hasta el presente se han identificado 22 subtipos, 13 subtipos H y 9 subtipos N (clasificación unificada en tabla 62-5), de manera que los virus gripales humanos corresponderían a 3 subtipos H (H1, H2 y H3) y 2 subtipos N (N1 y N2) que han dado lugar a 3 subtipos de virus (H1N1, H2N2 y H3N2). En los tipos B y C no se han descrito subtipos.

La notación de los virus gripales de origen humano debe incluir el tipo y el subtipo antigénico, así como el lugar, número y año de su aislamiento. Así, la cepa A/Hong Kong/8/68 (H3N2) significa que es un virus de tipo A, subtipo H3N2, aislado en Hong-Kong en 1968 y que corresponde a la cepa n.º 8 aislada en dicho año. En los virus de origen animal, además, se especifica el huésped animal (A/equine 2/Miami/63).

VARIACIONES ANTIGENICAS

El virus gripal del tipo A presenta una gran tendencia a sufrir variaciones en la mayoría de sus antígenos. Las varia-

Tabla 62-4. Virus de la gripe. Clasificación

Tipos	Subtipos	Cepas prototipo	Período de prevalencia	Variaciones antigénicas
A	H1N1	A/PR8/8/34	1933-1945	
	H1N1	A/FM1/1/47	1946-1956	
	H2N2	A/Singapore/1/57	1957-1967	
	H3N2	A/Hong-Kong/1/68	1968 →	
				A/Hong-Kong/107/71
				A/England/4/72
				A/Port Chalmers/73
				A/Scotland/840/74
				A/Victoria/3/75
				A/Texas/1/77
				A/Bangkok/2/79
				A/Phillippines/2/82
	H1N1	A/URSS/90/77	1977 →	
				A/Brazil/11/78
				A/Hong-Kong/2/82
				A/Chile/1/83
B		B/Massachusetts/3/66		
		B/Hong-Kong/5/72		
		B/Singapore/222/79		
		B/URSS/100/83		
C		C/Taylor/2233/47		

ciones mejor conocidas son las que afectan los genes que codifican los antígenos superficiales (HA y NA), y se han clasificado en variaciones mayores y menores. Los antígenos profundos son más estables, pero recientemente se están estudiando variaciones en las nucleoproteínas y el ARN. Las *variaciones mayores* son debidas a cambios importantes del genoma, que por lo general afectan un segmento o gen, lo que supone la aprición de nuevos antígenos en HA, NA o en ambos; es el fenómeno del salto antigénico (*antigenic shift*), que se produce bruscamente cada 10-20 años y condiciona la aparición de nuevos subtipos. Estas variaciones se detectaron primero en la HA y posteriormente

Tabla 62-5. Virus de la gripe tipo A. Clasificación de las hemaglutininas y neuraminidasas (1980)

Hemaglutininas		Neuraminidasas	
Clasificación unificada en subtipos (CDC/OMS, 1978-80)	Correspondencia con los subtipos (OMS, 1971)	Clasificación unificada en subtipos (CDC/OMS, 1978-80)	Correspondencia con los subtipos (OMS, 1971)
H1	H0	N1	N1
	H1		
	Hsw1[a]		
H2	H2	N2	N2
H3	H3	N3	Nav2
	Heq2[b]		Nav3
	Hav7		
H4	Hav4[c]	N4	Nav4
H5	Hav5	N5	Nav5
H6	Hav6	N6	Nav1
H7	Heq1	N7	Neq1
	Hav1		
H8	Hav8	N8	Neq2
H9	Hav9	N9	Nav6
H10	Hav2		
H11	Hav3		
H12	Hav10		
H13			

[a] Origen porcino (sw).
[b] Origen equino (eq).
[c] Origen aviar (av).

en la NA, cuya asociación ha dado lugar a los 3 subtipos de virus gripal (H1N1, H2N2 y H3N2), virus que han predominado en el mundo en diferentes períodos de tiempo.

El mecanismo de estas variaciones se considera debido a fenómenos de reagrupación de segmentos genómicos (*genetic reassortment*) entre virus humanos y animales de la misma especie, facilitados por la existencia de un ácido nucleico segmentado que puede replicarse independientemente. Estos fenómenos se han demostrado *in vitro* e *in vivo*, de manera que, cuando una célula se infecta por dos virus del tipo A de diferente composición antigénica, durante el proceso de replicación podrían producirse transferencias de segmentos o genes de uno a otro virus y dar lugar a virus con nuevos caracteres. También podría tratarse de un virus que hubiera producido una epidemia muchos años antes y que hubiera persistido inmodificado en una forma desconocida (en estado congelado en el medio ambiente, en un reservorio animal o integrado en el genoma de una célula de hombre o de animales) y, por último, que un virus animal haya adquirido infecciosidad para el hombre, sobre todo cuando viven en estrecha relación y existen posibilidades de transmisión directa, como se ha observado con los cerdos.

Por este motivo, estas variaciones aparecen de forma brusca en un punto determinado del globo y, como la población se comporta como no inmune, difunden en forma pandémica.

Las *variaciones menores*, por el contrario, son debidas a pequeños cambios que ocurren en una parte muy limitada del genoma, probablemente en uno de los grupos determinantes variables (epítopes) de la hemaglutinina, que afectan uno o pocos aminoácidos y se producen por mutación (mutaciones puntuales). Son cambios relativamente frecuentes que se presentan en forma progresiva y acumulativa; es el fenómeno del cambio o deslizamiento antigénico (*antigenic drift*), que condiciona la aparición de variantes antigénicas, y las personas inmunizadas actúan como mecanismo de selección de las nuevas mutantes. Efectivamente, los anticuerpos locales de la mucosa respiratoria (IgA secretora), que se encuentran en pequeña concentración, son capaces de proteger la mucosa frente a las reinfecciones por el mismo virus, pero no frente a virus cuya composición antigénica fuera algo diferente de la cepa original (HA o NA), de manera que estos virus se multiplicarían y se convertirían en dominantes. Por este motivo, las variantes menores se seleccionan lentamente a través de numerosos pases en personas inmunizadas. Han podido obtenerse antes de que aparezcan en la naturaleza por desarrollo del virus en cultivos celulares en presencia de anticuerpos específicos, aun cuando es muy difícil conocer, de todas las posibles variantes obtenidas, cuál será la que difundirá en la población. Se considera que deben ocurrir mutaciones en dos o más epítopes de la hemaglutinina para que la variación tenga significación epidemiológica.

Los estudios genéticos (hibridación, mapa peptídico) han podido demostrar que las diferencias en el contenido en aminoácidos de la hemaglutinina fue del 58 % entre H1 y H2, y del 36 % entre H2 y H3, mientras que las diferencias habidas en las variantes menores fueron de alrededor del 1 % al año.

Estas variantes se han detectado en todos los subtipos del tipo A y son la causa de los brotes interpandémicos, cuya intensidad está relacionada con la importancia de la variación. El tipo B presenta variaciones con menos frecuencia, y éstas no se han demostrado para el tipo C.

PERIODOS DE PREVALENCIA DE LAS VARIANTES

Los primeros virus aislados en 1933 (tabla 62-4), relacionados con el virus de la gripe porcina (Hsw1N1), presentaron la composición antigénica H1N1 y predominaron durante muchos años, con pequeñas variaciones a partir de 1946. En 1957 aparece una nueva variante, que representó una profunda variación de los dos antígenos superficiales, H2N2, considerada la más importante sufrida por el virus gripal y que dio lugar a la pandemia de gripe asiática. En 1968 aparece la tercera variante mayor, que representó un nuevo cambio en la hemaglutinina, H3N2, que ha predominado hasta el momento actual. Por último, en 1977 aparece una nueva variación mayor, el virus A/URSS/90/77, perteneciente al subtipo H1N1, semejante en sus antígenos superficiales a los virus que predominaron en el mundo de 1947 a 1957, lo que representa la reaparición de esta mutante después de 25-30 años de ausencia. Las cepas aisladas de este virus en 1978 presentaron los antígenos superficiales semejantes al subtipo H1N1, mientras que sus antígenos profundos eran semejantes al subtipo H3N2 probablemente por recombinación con virus circulantes.

Las variaciones menores se han detectado en todos los subtipos y son la causa de los brotes interpandémicos. Así, después de la aparición del virus Hong-Kong (H3N2) y de la pandemia correspondiente, todas las epidemias posteriores han sido producidas por variantes menores del virus y han aparecido sucesivamente las variantes Hong Kong (1971), England (1972), Port-Chalmers (1973), Scotland (1974), Victoria (1975), Texas (1977), Bangkok (1979) y Philippines (1982), variantes estas últimas que aún se encuentran en circulación.

Una característica singular del virus gripal ha sido que las variantes han ido apareciendo sucesivamente en el curso del tiempo y reemplazando las anteriores. Sin embargo, la aparición en 1977 del virus H1N1 ha modificado este esquema, pues por primera vez se ha producido la reaparición de un subtipo que predominó en épocas anteriores y no ha sustituido el anterior; se ha observado la circulación simultánea de virus pertenecientes a los subtipos H3N2 y H1N1, con la consiguiente demostración de infecciones mixtas y de fenómenos de recombinación genética en el hombre, subtipos que, si bien difundieron rápidamente en la población, contra todo pronóstico produjeron casos benignos, con escasa repercusión sobre las cifras de mortalidad.

EPIDEMIOLOGIA SEROLOGICA Y CIRCULACION DE LOS SUBTIPOS

Los estudios serológicos, utilizando la reacción de inhibición de la hemaglutinación, han demostrado que con la edad, al producirse nuevas *infecciones* aparentes o inaparentes por diversas variantes del virus, el número de anticuerpos en el suero aumenta y se hace cada vez más amplio, pero que los anticuerpos a título más elevado se encuentran frente a la cepa que produjo la primoinfección.

Es la doctrina del pecado original antigénico, que se supone debida a la persistencia de células memoria de reacción cruzada.

De esta manera, determinando los anticuerpos que se encuentran a título más elevado en personas de diferentes edades, se pueden conocer los virus que produjeron la primoinfección de su infancia y, en consecuencia, los subtipos que circularon en aquel período. Son los estudios de epidemiología serológica, que han permitido determinar los virus que predominaron en el mundo en distintas épocas (arqueología serológica). Así, el estudio de los sueros obtenidos en 1957 antes del comienzo de la pandemia de gripe asiática demostró la presencia de anticuerpos frente a la hemaglutinina H2 en las personas de más de 70 años de edad. Estos hallazgos permitieron sugerir que la pandemia de 1889 fue producida por un virus que presentaba la hemaglutinina H2 (semejante al subtipo H2N2). De la misma manera, en 1968 antes de la pandemia Hong-Kong, la demostración de la presencia de anticuerpos frente a la hemaglutinina H3 en el suero de los mayores de 70 años hizo suponer que la pandemia de 1898-1900 fue producida por un virus que presentaba la hemaglutinina H3 (semejante al subtipo H3N2). Por tanto, estos dos subtipos o sus antígenos reaparecieron en 1957 (gripe asiática) y en 1968 (gripe Hong-Kong), después de más de 65 años de ausencia. Estos datos han planteado el problema de la *circulación longitudinal* del virus o de sus antígenos en la especie humana (circulación intraespecífica), en especial de las hemaglutininas o de los genes que las codifican, y de la existencia de un número limitado de variaciones. La aparición del virus Hsw1H1 en 1976 en Estados Unidos (Fort Dix) y sobre todo del virus H1N1 en 1977 en forma pandémica apoyan esta teoría, en la que probablemente se habrían cumplido dos ciclos (tabla 62-6).

Por otra parte, los estudios inmunológicos, al demostrar la semejanza antigénica de diversos subtipos de hemaglutininas de virus humanos y animales, especialmente (H0, H1 y Hsw1) y (H3, Heq2 y Hav7) (tabla 62-5), han sugerido la existencia de una *circulación horizontal* o *interespecífica* de las hemaglutininas o de sus genes entre el hombre, los animales y las aves, que facilitaría los fenómenos de recombinación. El hecho de que el virus Hong-Kong presente una hemaglutinina (H3) semejante al virus de la influenza equina (Heq2) y de los patos (Hav7) ha hecho suponer que los virus de la gripe del caballo o de los patos pueden haber sido los progenitores del virus Hong-Kong, que se habría originado por un proceso de reagrupación de segmentos genómicos (*genetic reassortment*) entre los virus de la gripe asiática (H2N2) y el virus de la gripe equina o de los patos (H3).

MODELOS EPIDEMIOLOGICOS DE GRIPE

Existen dos modelos de gripe, la gripe pandémica y la gripe epidémica que dependen fundamentalmente del grado de inmunidad de la población, en estrecha relación con el grado de variación antigénica experimentado por el virus, y, además, de otras propiedades poco conocidas, como la transmisibilidad y virulencia, relacionadas con la rapidez de difusión y gravedad de la epidemia. Recientemente se ha demostrado por técnicas de análisis genético que estas propiedades son poligénicas, pues su manifestación no dependería de un solo gen, sino de la concurrencia de una determinada combinación o constelación de genes, que no sería siempre la misma, sino que variaría según el virus o el huésped.

Tabla 62-6. Circulación longitudinal de las hemaglutininas

Año	Subtipos	
1889	H2	
1900	H3	
1918	Hsw1	H1
1933	H0	H1
1946	H1	
1957	H2	
1968	H3	
1976	Hsw1	H1
1977	H1	H1

*Deducido de estudios seroepidemiologicos.

Gripe pandémica

Aparece cuando se produce una variación mayor del virus gripal frente al cual la población se comporta como no inmune. En estos casos, el virus difunde a nivel mundial sin sufrir ningún cambio en su constitución antigénica.

Las pandemias (tabla 62-7) se caracterizan por su elevada morbilidad y una mortalidad variable, pero en general importante. Antes de 1933, fecha del aislamiento del virus gripal, se conoce la aparición de pandemias o de grandes epidemias en 1889 y 1900, y sobre todo la pandemia de 1918 que causó una extraordinaria mortalidad (20.000.000 defunciones) y que se ha calificado como el más grave conflicto epidémico sufrido por la humanidad en todos los tiempos. A partir de esta fecha, las pandemias posteriores pudieron estudiarse detenidamente. La pandemia de gripe asiática se inició en la primavera de 1957 en el interior de China, se extendió rápidamente hacia el sur y alcanzó los puertos de Hong Kong y Singapur, donde fue aislado el virus. En los meses de junio y julio alcanzó Oriente Medio y, por otro lado, difundió al Japón, Australia, isla Hawai y la costa occidental de Estados Unidos. A fines de verano, la pandemia se había extendido por todo el mundo afectando (fig. 62-5) del 20-80 % de la población según las zonas, con una mortalidad relativamente elevada que afectó no sólo a los mayores de 50 años, sino también a las edades medias de la vida (21-50 años). En España se declararon 4 millones de casos con una tasa de mortalidad de 24,9 × 100.000 habitantes. La pandemia Hong-Kong iniciada en 1968 produjo una morbilidad y mortalidad semejante, aunque menor. En España se notificaron 2,4 millones de casos, con una tasa de mortalidad del 15,5 × 100.000 habitantes. En Barcelona afectó cerca del 20 % de la población y la mortalidad por gripe y neumo-

Tabla 62-7. Variaciones antigénicas mayores del tipo A. Subtipos y gripe pandémica

Año	Variaciones mayores (subtipos)	Pandemias	
		Importancia	Denominación
1918	Hsw1N1	+++	1918
1946	H1N1	+	1946
1957	H2N2	+++	Asiática
1968	H3N2	++	Hong-Kong
1977	H1N1	+	Rusa

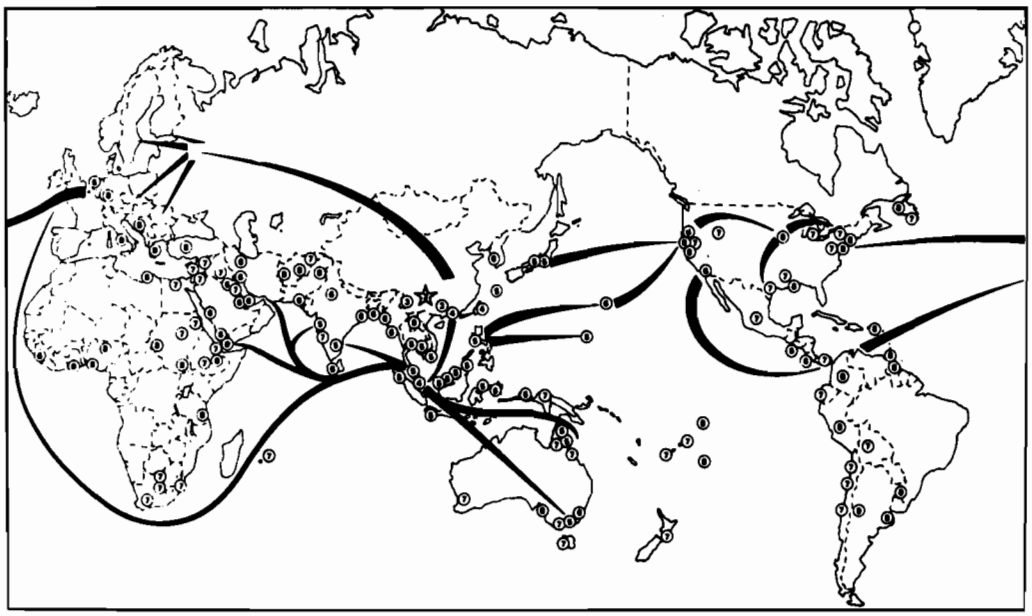


Fig. 62-5. La pandemia asiática de 1957. La estrella indica el probable lugar de origen y en su interior se encuentra el mes del año en que se produjo; los círculos muestran los distintos lugares a los que se extendió y en su interior se hallan los diversos meses de llegada de la pandemia (todos los meses se refieren al año 1957). (Reproducida por cortesía de Le Courrier, UNESCO, mayo 1958.)

nía, que se considera como un buen índice de actividad de la gripe, fue 3 veces superior a la media del trienio anterior (hipermortalidad), con repercusión importante en los grupos de edad media. La pandemia de 1977 producida por el virus H1N1 se ha caracterizado por su benignidad y afectó a los menores de 25-30 años, probablemente porque la mayoría de la población presentaba anticuerpos por haber sufrido la infección en su período de prevalencia anterior (1947-1957).

Gripe epidémica

Son brotes epidémicos localizados en una zona, región o país, ocasionados generalmente por las variantes menores del virus gripal, que se presentan durante los períodos interpandémicos. Aparecen bruscamente durante los meses de invierno (de octubre a abril en el hemisferio norte y de mayo a septiembre en el hemisferio sur), alcanzan su acmé en 2-3 semanas y desaparecen a las 4-6 semanas de su comienzo sin que se haya agotado la población susceptible. Presentan una morbilidad moderada (1-20 %), con la máxima incidencia en los grupos de 5-19 años, que son los principales transmisores y disminuyen progresivamente a partir de los 35-40 años; la mortalidad también es más baja y se concentra en los niños pequeños y sobre todo en los individuos mayores de 50 años, que representan el 75 % de la mortalidad. En España, el número de casos declarados oscila de 200.000 a 800.000, con tasas de mortalidad variables, de 6,1 a 17,4 × 100.000 habitantes.

Pueden distinguirse dos tipos de epidemias según su intensidad y difusión: *a)* Las *epidemias polianuales*, que ocurren cuando aparece una nueva variante menor, en general cada 2-3 años para el tipo A y cada 5-6 para el tipo B; son epidemias que presentan una distribución mundial y cuya intensidad está en relación con la importancia de la variación (tabla 62-8). *b)* Los brotes *epidémicos estacionales*, producidos por la misma variante y que ocurren cada año en invierno, son epidemias de intensidad y capacidad de difusión menor, que van agotando progresivamente la población susceptible durante los años interepidémicos.

Tabla 62-8. Variaciones antigénicas menores del tipo A. Variantes antigénicas del virus H3N2 y gripe epidémica

Año	Variaciones menores		Variaciones antigénicas	Epidemias
1968	H3	N2	A/Hong-Kong/1/68	+
1969		N2		+++
1970				+
1971	H3		A/Hong-Kong/107/71	+
1972	H3		A/England/42/72	++
1973	H3	N2	A/Port-Chalmers/1/73	++
1974	H3		A/Scotland/840/74	+
1975	H3	N2	A/Victoria/3/75	++
1977	H3		A/Texas/1/77	+
1979	H3	N2	A/Bangkok/2/79	+

PATOGENIA

El virus gripal produce infecciones respiratorias, caracterizados por su gran contagiosidad. El virus llega a la mucosa respiratoria, generalmente por vía aérea (gotitas aerosoles) y menos veces por contacto, manos sucias y secreciones desecadas en objetos recientemente contaminados, donde, si no es neutralizado por la acción de los anticuerpos locales de infecciones anteriores o los inhibidores inespecíficos contenidos en el moco (ácido neuramínico) o eliminado por el sistema mucociliar, se fija en los receptores mucoproteicos, penetra y se replica en las células epiteliales. Posteriormente difunde por contigüidad y da lugar a un proceso inflamatorio con necrosis del epitelio ciliado del aparato

respiratorio superior. En algunos casos se pueden afectar las vías respiratorias inferiores (bronquios, bronquiolos y alveolos) y sólo rara vez produce una fase de viremia. El epitelio respiratorio se regenera en 1 semana, pero la función pulmonar precisa mucho más tiempo.

CUADROS CLINICOS

Puede producir los siguientes cuadros:

Síndrome gripal

Es el cuadro más típico y frecuente, que corresponde a la gripe no complicada. Hay que tener en cuenta que el calificativo de gripe o de afección gripal se aplica popularmente a cualquier infección de las vías respiratorias superiores, muchas veces sin ninguna relación con la gripe. El síndrome gripal es un cuadro clínico bien definido, caracterizado por un período de incubación muy corto (1-3 días), un comienzo brusco con síntomas generales, escalofríos, fiebre, cefalalgia, mialgias, extraordinaria fatiga y debilidad (quebrantamiento general), y la presencia de ligeras manifestaciones catarrales de las vías respiratorias (tos, dolor en la garganta, dolor subesternal, obstrucción nasal), síntomas que se hacen más manifiestos a medida que la infección progresa. La curación es rápida (2-5 días), pero en la convalecencia queda una astenia residual que puede durar 2-3 semanas.

El síndrome gripal, en la mayoría de casos y sobre todo en los brotes epidémicos, está producido generalmente por el virus gripal, pero en ocasiones puede ser debido a otros virus (rinovirus, adenovirus, enterovirus).

Formas menores

El virus gripal puede producir formas muy benignas y ambulatorias, semejantes al resfriado común, bronquitis o faringitis. Por lo general se presenta en niños mayores o adultos infectados en años anteriores por virus antigénicamente relacionados o en vacunados. En los niños se presentan cuadros benignos y atípicos sin apenas complicaciones. También puede producir formas con síntomas mínimos e incluso *infecciones inaparentes*, que sólo se detectan en las encuestas serológicas (de 1 a 9 formas inaparentes por cada forma clínica). El tipo C produce formas subclínicas o semejantes al resfriado común.

Formas graves

Son debidas a complicaciones que pueden ser producidas por el propio virus o infecciones bacterianas secundarias. En los niños pequeños el virus gripal puede producir infecciones de las vías respiratorias inferiores (bronquiolitis, clup), que se observan en el curso de los brotes epidémicos en la población. En los adultos pueden presentarse cuadros de neumonía intersticial, en personas normales de todas las edades, pero especialmente en personas afectadas de procesos crónicos, o tratadas con corticoides. Estos cuadros aparecen en el curso de la enfermedad, no responden a los antibióticos y su mortalidad es elevada. El examen del esputo revela una flora bacteriana normal.

También se han observado cuadros extrapulmonares de extraordinaria gravedad, en especial afecciones del SNC, como las mielitis ascendentes (síndrome de Guillain-Barré), la encefalitis gripal que se presenta rara vez (0,1 %) o formas no inflamatorias, como el síndrome de Reye, caracterizado por una encefalopatía con degeneración grasa del hígado y mortalidad elevada (20-50 %), que se ha señalado con mayor frecuencia en las infecciones por el tipo B.

Las complicaciones bacterianas son mucho más frecuentes, en especial las neumonías, bronconeumonías y las recrudescencias de procesos pulmonares crónicos de tipo obstructivo. En estos casos, a los 3-4 días de la remisión del proceso gripal aparece un cuadro pulmonar que puede ser producido por diversos microorganismos, pero reviste especial gravedad cuando intervienen estafilococos o pseudomonas o existen factores de riesgo (edad avanzada, procesos pulmonares crónicos), que son los responsables de la mayoría de casos graves o mortales.

Infecciones hospitalarias

Durante las epidemias de gripe se producen con frecuencia infecciones y brotes en los enfermos hospitalizados, a partir de otros enfermos afectos de gripe o del personal asistente. Aparecen sobre todo en aquellos que presentan factores de riesgo (enfermedades crónicas, inmunodeficiencias congénitas o adquiridas), frecuentes en las unidades de cuidados intensivos, y pueden revestir mucha gravedad. De ahí la importancia de la vacunación del personal sanitario y la protección de los enfermos de riesgo elevado.

GRIPE ANIMAL

Los virus gripales de tipo A se encuentran muy difundidos en la naturaleza en diversas especies de animales y aves, tanto domésticos como salvajes, en especial en cerdos, caballos, pavos, patos, gallinas e incluso focas en los que producen por lo general infecciones respiratorias de diversa gravedad.

Aun cuando existe cierta adaptación del virus al huésped, sin embargo, se ha demostrado la posibilidad de infecciones cruzadas entre las diversas especies y de éstas con el hombre, especialmente en los cerdos y aves. En los cerdos se producen con frecuencia en otoño epizootias de gripe, y se ha observado que el virus porcino (Hsw1N1) puede infectar al hombre (brote epidémico en Fort Dix, 1976) y, además, que las diversas variantes antigénicas del virus Hong-Kong (H3N2), productores de brotes en el hombre, se han propagado en el cerdo y persisten durante mucho tiempo después de la extinción de las epidemias humanas. En las aves salvajes se producen por lo general infecciones inaparentes con eliminación persistente del virus por vía digestiva (cloaca), lo que contribuye a diseminar ampliamente la infección. De los patos salvajes se han aislado virus que presentan una gran variedad de combinaciones antigénicas, incluidas las diversas variantes antigénicas productoras de infecciones humanas, lo que ha permitido sugerir que el virus H1N1 hubiera podido persistir en las aves en China, antes de su reaparición en el hombre.

Estos datos indican que los animales y las aves constituyen un importante reservorio natural de virus gripales A,

con posibilidades de ser transmitidos al hombre o de producir, por recombinación en el curso de infecciones mixtas, nuevos subtipos hallados en el origen de brotes pandémicos.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Como el síndrome gripal puede ser producido en algunos casos por otros virus y, además, los virus gripales pueden producir formas atípicas y menores, el diagnóstico de infección por virus gripal no puede realizarse fuera de época epidémica sin el concurso del laboratorio.

En general, sólo se practica en casos especiales para confirmar un diagnóstico clínico de presunción, demostrar la presencia de gripe en la población y determinar la estructura antigénica de virus.

Métodos directos

Se basan en el aislamiento del virus o en la demostración del virión o sus antígenos en las células infectadas.

Aislamiento

La muestra está constituida por las secreciones respiratorias obtenidas por frotis nasal y faríngeo enérgico durante los 3 primeros días de enfermedad. El producto, si no se procesa de inmediato, puede conservarse en el frigorífico durante 48 horas o más tiempo congelado a –70 °C.

Se inocula en huevos embrionados de 10-13 días por vía amniótica y alantoidea, y se demuestra a los 3 días el desarrollo del virus por la reacción de hemaglutinación con hematíes de cobayo. Si la reacción es negativa, deben efectuarse dos nuevos pases antes de considerarlo negativo.

También pueden inocularse cultivos celulares (tipos A y B), en células primarias de riñón de mono, o de línea (LLCMK2), y células de riñón de perro (MDCK), que, además, permiten aislar otros virus respiratorios y reconocer el desarrollo del virus a los 5-7 días por hemadsorción. El tipo B produce, además, inclusiones citoplásmicas basófilas muy características.

La identificación del virus aislado se efectúa en general por la caracterización de la hemaglutinina mediante la reacción de inhibición de la hemaglutinación (RIH) en presencia de sueros de referencia de las variantes de los tipos A y B en circulación o de años anteriores. Se ensaya la cepa aislada con diversos sueros de referencia de título conocido; cuando la reacción es positiva, se llega al diagnóstico de tipo y subtipo del virus gripal. Además, comparando los títulos obtenidos con la cepa problema y las diversas variantes conocidas, puede saberse si la cepa es semejante a una de ellas o presenta diferencias lo suficientemente significativas que sugieran que ha ocurrido una variación menor (tabla 62-9). Cuando las reacciones son negativas, hay que sospechar la existencia de un nuevo agente (otros virus, micoplasma) o la posible aparición de una nueva variante mayor o subtipo.

Para la identificación completa de la cepa problema, se debe determinar, en primer lugar, el tipo antigénico mediante la caracterización de los antígenos profundos (M y NP) por reacción de fijación del complemento o inmunodifusión y, en segundo lugar, el subtipo determinando los dos antígenos superficiales (HA y NA) por reacciones de inhibición de la hemaglutinación y de la actividad neuraminidásica, mediante antisueros de animales inmunizados.

Demostración del virus o sus antígenos

En los primeros días de la enfermedad puede demostrarse la presencia del virus o sus antígenos en las células del epitelio respiratorio, por inmunofluorescencia directa o indirecta. Es una técnica de diagnóstico rápido, que exige obtener una buena muestra, utilizar reactivos muy puros y disponer de una gran experiencia para evitar las reacciones inespecíficas. Se puede utilizar para detectar los antígenos en las muestras de necropsias, donde es difícil aislar el virus, o en los cultivos celulares para demostrar precozmente su desarrollo. También se pueden emplear métodos de enzimoinmunoanálisis para detectar los antígenos del virus (neuraminidasa) en las secreciones respiratorias.

Métodos indirectos

El diagnóstico serológico puede efectuarse por la reacción de fijación del complemento (FC) con antígeno soluble o profundo, que es tipoespecífica, o la reacción de inhibición de la hemaglutinación (IH) mediante antígenos seleccionados de las cepas prevalentes, que es específica de subtipo. La reacción se efectúa con dos muestras de suero (sueros precoz y tardío).

Los anticuerpos fijadores del complemento se desarrollan lentamente, alcanzan el título máximo a los 15-20 días, se mantienen durante 1 mes y desaparecen a los 3 meses. La reacción se considera positiva cuando se demuestra una seroconversión o un aumento significativo del título de anticuerpos en la segunda muestra (× 4). Con una sola muestra, un título de 1/64 en adultos y de 1/32 en niños menores de

Tabla 62-9. Identificación de virus aislados. Caracterización de la hemaglutinina por reacciones de inhibición de la hemaglutinación

	Sueros hiperinmunes				
Antígenos de referencia	A/Texas/1/77	A/Bangkok/1/79	A/Belgium/2/81	A/Phillippines/2/82	A/Caen/1/84
A/Texas/1/77	1.280	640	640	160	320
A/Bangkok/1/79	320	2.560	640	160	40
A/Belgium/2/81	1.280	2.560	2.560	640	160
A/Phillippines/2/82	320	320	320	320	80
A/Caen/1/84	320	320	80	80	1.280
A/Barcelona/002730/84*	320	320	320	160	160

*Cepa problema más semejante a A/Phillippines/2/82.

5 años se acepta como de fuerte presunción de enfermedad actual.

Los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación aparecen a los 7 días, aunque muchas veces se detectan títulos bajos procedentes de infecciones anteriores con cepas relacionadas, alcanzan el título máximo a las 2-4 semanas y disminuyen progresivamente durante 1 año hasta llegar a los niveles de preinfección, y persisten anticuerpos residuales durante muchos años. La reacción se considera positiva con dos sueros cuando se demuestra una seroconversión o un aumento significativo (× 4) en el segundo suero y con un solo suero cuando los anticuerpos van ligados a la fracción IgM. Hay que tener en cuenta que en el suero problema pueden existir inhibidores inespecíficos de la hemaglutinación (mucoproteínas), que, por ser causas de error en la interpretación de los resultados (reacciones positivas falsas), deben eliminarse previamente por tratamiento del suero con RDE (*receptor destroying enzime* o neuraminidasa), una mezcla de tripsina y peryodato potásico o caolín. También pueden emplearse técnicas de inmunodifusión y hemólisis radial, que no precisan la eliminación de estos inhibidores, y métodos inmunoenzimáticos con virus totales o antígenos purificados, que son los más sensibles y específicos.

INMUNIDAD

Depende de la existencia de anticuerpos neutralizantes frente a los antígenos superficiales del virus (HA y NA). Después de la infección aparecen anticuerpos en la mucosa respiratoria (IgA) que la protegen durante 1 ó 2 años frente a las cepas homólogas, las células infectadas producen interferón que induce una protección inespecífica durante algunas semanas y existen, además, otros factores poco conocidos (inmunidad celular) que evitarían la penetración del virus en las células sensibles de la mucosa respiratoria. Asimismo aparecen anticuerpos en el suero que persisten varios años, responsables en parte de la inmunidad y la benignidad de las reinfecciones producidas por el mismo subtipo. Se considera que un título de anticuerpos IH en el suero $> 1/40$ es indicativo de inmunidad. Al cabo de poco tiempo disminuye el título de anticuerpos locales (IgA), y las células se hacen sensibles a nuevas reinfecciones, sobre todo por virus que presentan pequeños cambios en sus antígenos superficiales, lo que representa un mecanismo de selección de las nuevas variantes.

La respuesta inmune en la segunda infección se caracteriza por la aparición de anticuerpos frente a los nuevos antígenos y de una hiperrespuesta o reacción anamnéstica frente a los antígenos comunes de la cepa que produjo la primera infección en la infancia, los cuales son los que se hallan a título más elevado (doctrina del pecado antigénico original).

TRATAMIENTO

No existe tratamiento específico. La amantadina (clorhidrato de l-adamantanamina) es una amina que inhibe una fase precoz de la replicación vírica, impidiendo la penetración o la liberación del ácido nucleico de los virus gripales, en especial del tipo A. Se ha ensayado en diversas pruebas controladas y presenta una eficacia terapéutica moderada; dosis de 100 mg dos veces al día durante 3-5 días reducen la duración de la enfermedad en el 50 % de casos, pero producen en el 5 % pequeñas manifestaciones neurológicas (nerviosismo, insomnio, vértigos). En el tratamiento de las complicaciones bacterianas deben administrarse antibióticos, en especial penicilinas resistentes a la penicilinasa, ampicilina o cefalosporinas. En los casos de resistencia a la ampicilina puede estar indicado el cloranfenicol (*H. influenzae*) o la clindamicina (*S. aureus*).

PROFILAXIS. VACUNAS

La vacunación es la medida fundamental en la profilaxis de la gripe. Se emplean vacunas inactivadas y se encuentran en período de ensayo las vacunas atenuadas.

Vacunas inactivadas

Se preparan a partir del líquido alantoideo de huevos embrionados y están constituidas por viriones o subunidades tratadas por formol o β-propiolactona. Estas vacunas deben cumplir una serie de condiciones relacionadas con su composición, purificación y concentración.

Composición

Como el virus gripal sufre variaciones antigénicas periódicas, la vacuna para ser eficaz debe presentar una composición idéntica o muy semejante a las cepas de los tipos A y B, que se encuentran en circulación (vacuna bivalente). La OMS ha creado un dispositivo de vigilancia epidemiológica, constituido por una red de más de 100 Centros Nacionales de la Gripe distribuidos por todo el mundo en relación con dos centros mundiales (Londres y Atlanta), encargados de detectar lo más rápidamente posible cualquier variación antigénica que se produzca en el virus gripal, para así estudiar la nueva variante y distribuirla a los centros productores de vacuna. Cada año, la OMS de acuerdo con la experiencia adquirida recomienda la composición de la vacuna para el año próximo. De ahí que la vacuna antigripal no sea una vacuna estándar, sino una vacuna «hecha a medida» que cada año se revisa y debe contener las variantes en circulación o cepas muy relacionadas. Así, la OMS ha recomendado para la temporada 1986-1987 la siguiente composición de la vacuna:

1. Antígeno semejante a A/Christchurch/4/85(H3N2)-A/Mississipi/4/85(H3N2). A/Mississipi/1/85 (H3N2).
2. Antígeno semejante a A/Chile/1/83 (H1N1).
3. Antígeno semejante a B/AnnArbor/1/86.

También se puede añadir un antígeno semejante a A/Singapore/6/86 (H1N1).

Purificación y concentración

Las primeras vacunas estaban preparadas con suspensiones crudas de virus o poco purificadas, que eran muy reactógenas, pero los avances técnicos habidos durante este último decenio han permitido preparar vacunas purificadas y

concentradas por centrifugación zonal, que han reducido el número de reacciones y aumentado su eficacia. En la actualidad se dispone de dos vacunas: *vacunas totales*, que son las más inmunógenas, pero producen algunas reacciones secundarias en la población infantil, y las *vacunas fragmentadas o fraccionadas (split vaccines)*, preparadas por disrupción del virión con éter o detergentes, que separan la envoltura proteica con las espículas de la cubierta lipídica y ácidos nucleicos que se eliminan en su mayoría; son menos tóxicas para la población infantil, aunque también menos inmunógenas. Además, existe la *vacuna de subunidades* con hemaglutininas que se han purificado y unido por su extremidad lipófila, en forma de estrellas; es menos inmunó gena debiéndose administrar mayores dosis o adicionar un adyuvante.

Dosis y vía

Las vacunas se administran por vía parenteral y deben contener 15 µg de hemaglutinina por dosis. En los adultos y niños mayores de 12 años con experiencia inmunológica anterior basta administrar una sola dosis de 0,5 ml de vacuna total o fraccionada. Para los menores de 12 años, en su mayoría sin experiencia previa con el virus gripal y que no hayan sido vacunados el año anterior, deben administrarse 2 dosis de vacuna con un mes de intervalo para producir una respuesta adecuada, y se aconseja emplear vacunas fraccionadas para disminuir las reacciones, que se administran a la misma dosis (0,5 ml) en los niños de 3 a 12 años y a dosis reducida (0,25 ml) en los menores de 3 años (tabla 62-10).

Eficacia

Los numerosos ensayos efectuados para valorar la eficacia de la vacuna han dado resultados variables, lo que ha motivado que su eficacia frecuentemente haya sido puesta en duda. Esta variabilidad ha sido debida generalmente al método de valoración utilizado. Cuando se emplea el método clínico, hay que tener en cuenta que el diagnóstico clínico de la gripe es muy inexacto y muchas veces erróneo, pues en otoño e invierno se producen con frecuencia casos y brotes epidémicos de infecciones respiratorias agudas, que clínicamente son muy semejantes y se confunden con la gripe, pero que están producidos por otros virus o agentes frente a los cuales la vacuna no presenta acción protectora. Por esto es fundamental que el diagnóstico clínico sea confirmado por el laboratorio o al menos que se llegue al diagnóstico etiológico del brote epidémico, pues, sólo en estos casos, el diagnóstico clínico puede tener cierto grado de precisión.

Ahora bien, la vacuna de la gripe es una vacuna inactivada que se administra por vía parenteral y que induce una inmunidad fundamentalmente humoral y de corta duración. Los ensayos piloto han demostrado una protección del 70-90 % de la población con una duración de 3 a 6 meses. Teniendo en cuenta que la gripe es una infección estacional, que se presenta fundamentalmente en invierno, puede vacunarse durante los meses de octubre o noviembre, de manera que la inmunidad permita cubrir todo el período epidémico y evitar la aparición de la enfermedad. En estas condiciones, la vacuna antigripal se comporta como una excelente vacuna a nivel individual, sobre todo para las personas expuestas en los brotes interpandémicos, y está indicada para la protección de los grupos de riesgo elevado, como las personas de edad avanzada afectadas de procesos crónicos, pero también está indicada por motivos sociales en los empleados de servicios públicos e industrias y por motivos epidemiológicos especialmente en las escuelas y hospitales. La gripe es una de las infecciones hospitalarias más frecuentes y graves.

De ahí la importancia de la vacunación del personal de los hospitales, pues es la medida más eficaz para evitar la aparición de brotes hospitalarios que gravan extraordinariamente la mortalidad.

Su eficacia como medida general para la protección de la población es muy aleatoria, pues no existen datos que indiquen que con la vacunación se haya modificado el curso de una epidemia ni mucho menos que sugieran su erradicación.

Cuando se produce la aparición de una variante mayor y se pone en marcha una pandemia, la vacunación está indicada para todos los grupos de edad a fin de reducir la repercusión de la pandemia. En estos casos es muy importante preparar una vacuna con la nueva variante con la máxima rapidez para poder inmunizar la población antes de la llegada del virus. Para esto se recurre a obtener recombinantes de la variante con cepas adaptadas al desarrollo en huevo embrionado.

Sin embargo, la eficacia de la vacuna inactivada en la protección de la población no expuesta es menor debiéndose administrar dos dosis.

Vacunas atenuadas

Se han preparado vacunas vivas, atenuando el virus por métodos empíricos (URSS, 1960), que, administradas por instilación nasal o aerosol, han producido grados de protección variables. Más recientemente se ha intentado la atenuación por manipulación genética y están en período de

Tabla 62-10. Vacuna de la gripe. Dosificación según la edad

Edad (años)	Vacunas	Dosificación	
		Cantidad (ml)	Número de dosis
>12	Totales o fraccionadas	0,5	1
3-12	Fraccionadas	0,5	2
<3	Fraccionadas	0,25	2

Recomendaciones del Public Health Service Immunization Practices Advisory Committee (1980).

ensayo vacunas preparadas con mutantes atenuadas, obtenidas por distintos procedimientos [mutantes adaptadas a bajas temperaturas, [25 °C], mutantes termosensibles que se desarrollan a 33 °C, pero no a 37 °C, mutantes resistentes a los inhibidores). Estas vacunas inducen una inmunidad humoral y celular más intensa y amplia, semejante a la producida por la infección natural. Presentan la ventaja de permitir la vacunación sistemática de la población, indicada para la protección de las personas no expuestas y el control de la gripe pandémica, pero todavía existen algunos problemas relacionados con su preparación, estabilidad y poder inmunógeno de la mutante, que es preciso solucionar antes de su empleo.

Quimioprofilaxis

Se emplea el clorhidrato de *amantadina*, que, a dosis de 100 mg, dos veces al día, durante 10-14 días, protege al 75 % de infectados. En el curso de un brote epidémico, cuando no hay tiempo para producir una buena inmunización, puede administrarse la amantadina para proteger las personas de riesgo elevado, los contactos y el personal asistencial de los hospitales, con el fin de evitar la aparición de brotes hospitalarios. También está indicada para proteger las personas que no pueden vacunarse por presentar hipersensibilidad a alguno de los componentes de la vacuna, en especial a la albúmina de huevo, y en los inmunodeprimidos.

El *ribavirín* (virazol) inhibe la síntesis del ARN vírico por bloqueo de la biosíntesis de la guanina. Se ha demostrado más activo para prevenir las infecciones experimentales en animales y en cultivos celulares por el tipo A, pero hasta el presente se han realizado pocas pruebas de campo para poder asegurar su eficacia.

VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

Existen una serie de indicadores de gripe epidémica, que utilizan las autoridades sanitarias para la detección de los brotes y la adopción de medidas profilácticas en otras zonas (vacunación). Los indicadores pueden ser clínicos o de laboratorio.

Los brotes de gripe se caracterizan clínicamente en que producen un aumento del número de consultas por infecciones respiratorias en los niños, seguido de la aparición de casos de síndrome gripal en adultos y de un incremento del número de enfermos hospitalizados por bronquitis, neumonías, reactivación de procesos pulmonares crónicos y cardiopatías, con repercusión sobre las tasas de absentismo escolar y laboral y especialmente las de mortalidad.

En este caso se observa un aumento de las cifras de mortalidad general y de las tasas específicas de mortalidad por neumonía y gripe, por encima de las cifras medias de los 5 años anteriores (umbral epidémico); es la mortalidad en exceso o hipermortalidad característica de las epidemias de gripe (fig. 62-6).

La extensión y gravedad de la epidemia se encuentran en relación con el grado de la variación sufrida por el virus y pueden conocerse por la distribución de la morbilidad y mortalidad en los diferentes grupos de edades. Cuando el brote afecta predominantemente a niños y jóvenes y la mortalidad se centra en personas de edad avanzada, indica una variación menor frente a la cual la mayoría de la población presenta cierta inmunidad (fig 62-7). Por el contrario, cuando se produce una variación importante, se afectan todos los grupos de edades, con repercusión de la mortalidad en los grupos de edad media (20-25 años).

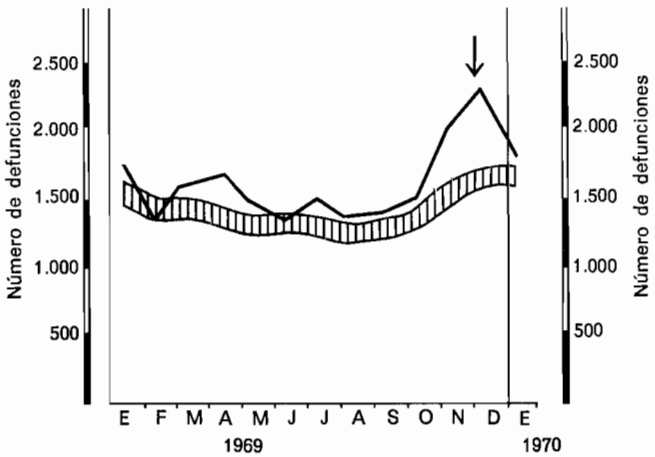


Fig. 62-6. Mortalidad general comparada con la media del quinquenio anterior. Hipermortalidad durante la segunda onda Hong-Kong. (Barcelona, 1969.)

Los indicadores de laboratorio se basan en el aislamiento del virus gripal de los enfermos, especialmente de los niños con procesos respiratorios febriles y de los adultos con síndrome gripal (tabla 62-11). También por métodos serológicos se determina el título de anticuerpos en personas que

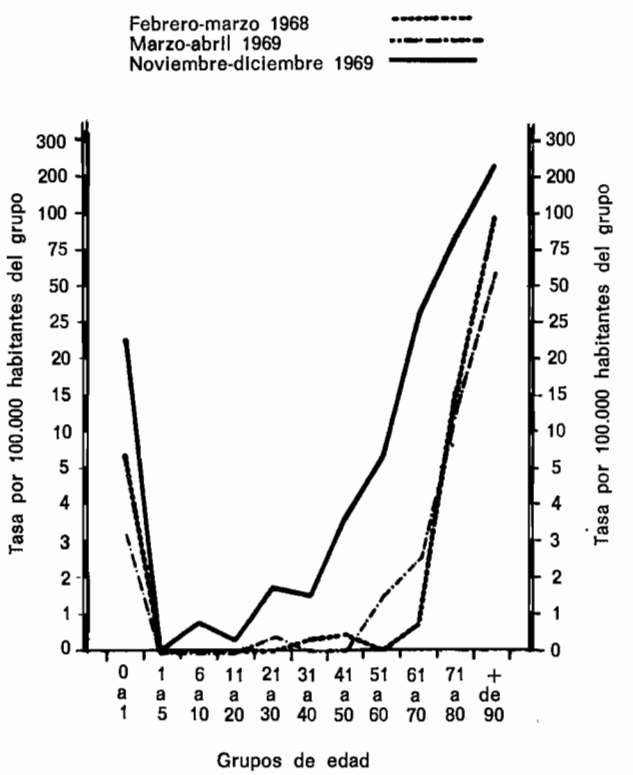


Fig. 62-7. Pandemia Hong-Kong. Mortalidad por neumonía por grupos de edades. (Barcelona, 1968-1969.)

Tabla 62-11. Epidemias de gripe de 1968 a 1981 en Barcelona (Centro Nacional de la Gripe)

Año	Período	Variante	Extensión y gravedad
1968	Febrero	A/Tokyo/3/67 (H3N2)	++
1969	Marzo-abril	A/Hong-Kong/1/68 (H3N2)	++
1969	Noviembre-diciembre	A/Hong-Kong/1/68 (H3N2)	++++
1971	Noviembre-diciembre	A/Hong-Kong/1/68 (H3N2)	++
1971	Marzo-abril	B/Mass/3/68	+
1972	Diciembre	A/England/42/72 (H3N2)	+++
1973-74	Diciembre-enero	B/Hong-Kong/5/72	+
1974	Marzo-abril	A/Port-Chalmers/1/73 (H3N2)	+
1974-75	Diciembre-enero	A/Port-Chalmers/1/73 (H3N2)	+++
1976	Febrero	B/Wellington/1/75	+
1976	Marzo-abril	A/Victoria/3/75 (H3N2)	+++
1977	Marzo	A/Victoria/3/75 (H3N2)	+
1978	Marzo	A/Texas/1/77 (H3N2)	+
1978-79	Diciembre-enero	A/URSS/90/77 (H1N1) A/Texas/1/77 (H3N2)	++
1979-80	Octubre-diciembre	A/Brazil/11/78 (H1N1) A/Bangkok/2/79 (H3N2)	+++
1980-81	Diciembre-enero	A/Texas/1/77 (H3N2) A/Bangkok/2/79 (H3N2)	++

han sufrido un proceso febril o a partir de los sueros recogidos de rutina mediante la reacción de fijación del complemento o por inmunodifusión radial, método que permite escrutar con rapidez gran número de sueros (Centros Nacionales de la Gripe). En los Centros Mundiales de Londres y Atlanta, se caracteriza el virus, se prepara antígeno y antisueros para su diagnóstico y se distribuye a los centros preparadores de vacuna. La eficacia de este programa de vigilancia epidemiológica pudo demostrarse en diciembre de 1977, cuando a partir del conocimiento de la aparición de la nueva variante N1H1 por el Centro de la Gripe de Moscú, en 3 semanas se pudo llevar a término todo este proceso.

BIBLIOGRAFIA

Beare, A. S.: Basic and applied influenza research. CRC Press Inc., 1982.

International Conference on Hong-Kong Influenza. Bull WHO, 41, 335-748, 1971.

Kaplan, M. M., y Webster, R. G.: The epidemiology of influenza. Sci. Ann., 237, 88-97, 1977.

Kilbourne, E. D. (dir.): The influenza virus and influenza. Academic Press. New York, 1975.

Nájera, R.; Pérez Breña, y cols.: Epidemiología. Pathos, 22, 71-104, 1981.

Pumarola, A.: Rodríguez Torres, A., y Beltrán, M.: La gripe Hong-Stuart en Barcelona. Med. Trop., 1-30, 1970.

Stuart Harris, Ch. H., y Schild, G. C.: Influenza. Edward Arnold, London, 1976.

Tyrrell, D. A. J.; Schild, G. C.; Dowdle, W. R.; Clanok, R., y Murphy B.; Development and use of influenza vaccines. Bull. WHO, 59, 1965-1973, 1981.

WHO: A revision of the system of nomenclatura for influeza viruses. Bull. WHO, 58, 585-591, 1980.

Wiley, D. C.; Wilson, L. A., y Skehel, J. J.: Structural identification of the antibody-binding sites of Hong Kong influenza hemagglutinins and their involvement in antigenic variation. Nature, 289, 373-378, 1981.

Capítulo 63

Paramixovirus y coronavirus

Agustín Pumarola

Paramixovirus

CONCEPTO Y CLASIFICACION

La familia *Paramyxoviridae* está constituida por virus pleomorfos, de mayor tamaño (150-300 nm) que los ortomixovirus, con una envoltura en doble capa muy frágil, cubierta de proyecciones (fig. 63-1).

La envoltura contiene tres proteínas, dos glicoproteínas, que forman los dos tipos de proyecciones, y una proteína no glicosilada, que contribuye a la estructura e integridad de la capa interna de la membrana. De las glicoproteínas, una (proteína HN) presenta acción de hemaglutinina y de neuraminidasa, actividades que no se pueden separar, y la otra (proteína F) es responsable de la acción hemolítica y de fusión celular del virión. Contienen un nucleocápside en forma de tubo con simetría helicoidal, constituido, al igual que los ortomixovirus, por una cadena negativa de ARN asociada con nucleoproteínas y moléculas de polimerasa, que se diferencia por su mayor diámetro (14-18 nm) y por formar una sola molécula no segmentada, lo que explica que los virus sean genéticamente estables.

La fragilidad de la envoltura hace que los virus sean muy lábiles a las condiciones ambientales e incluso la mayoría se inactiven por congelación.

No se cultivan en huevo embrionado al primer pase, a excepción del virus de la parotiditis, pero se desarrollan en cultivos celulares y producen una acción citopática caracterizada por fenómenos de fusión de las células infectadas con formación de células gigantes o sincitios, debido a la existencia en la membrana del factor de fusión celular, que, además, es responsable de su actividad hemolítica. En presencia de hematíes de pollo o cobayo se produce la fijación del virus en los receptores mucoproteicos de la célula por medio de uno de los tipos de proyecciones de la envoltura (NH), que da lugar al fenómeno de hemaglutinación, que puede ser reversible, lo cual a su vez facilita la acción del factor de fusión y la producción de hemólisis.

En el citoplasma de las células infectadas tiene lugar la síntesis por separado del ácido nucleico, nucleoproteínas y moléculas de polimerasa, que se integran para formar el nucleocápside, el cual más tarde se sitúa y alinea debajo de la membrana citoplásmica de la célula, precisamente en aquellas zonas donde se ha producido la sustitución de las proteínas de la célula por las proteínas específicas del virus. La membrana forma evaginaciones que contienen el nucleocápside y las proyecciones de hemaglutinina, responsables del fenómeno de hemadsorción, que posteriormente darán lugar a la formación y liberación de nuevos virus. Los nucleocápsides en exceso se acumulan en la célula y forman inclusiones en el citoplasma y algunas veces en el núcleo.

Su estructura antigénica es compleja. No presentan un antígeno común, pero existen relaciones antigénicas entre los virus parainfluenza, entre los distintos paramixovirus humanos y entre paramixovirus humanos y animales, que es necesario conocer para interpretar debidamente las reacciones serológicas. En general, en la membrana existen antígenos víricos, que pueden demostrarse por reacciones de inhibición de la hemaglutinación y de neutralización, y antígenos solubles en el nucleocápside por reacciones de fijación del complemento. No se producen infecciones cruzadas entre virus humanos y animales.

Atendiendo al diámetro del nucleocápside, a la actividad de la envoltura y a la presencia y localización de las inclu-

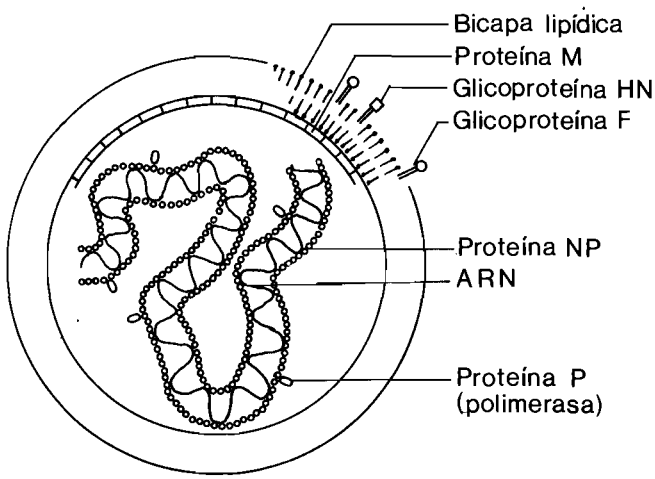


Fig. 63-1. Paramixovirus. Modelo esquemático. (Modificado de Dulbecco, R., y Ginsberg, H. S.: Microbiology, 3.ª ed. Davis, B. D., y cols., Harper and Row, 1980.)

Tabla 63-1. Clasificación y principales características de los paramixovirus humanos

Género	Diámetro del nucleocápside (nm)	Actividades del virus			Crecimiento		Actividad en células			Especies	Serotipos
		HA	NA	HL	HE	CC	HD	Fusión	Inclusiones eosinófilas		
Paramyxovirus	18	+	+	+	±	+	+	+	C	Virus parainfluenza	1, 2, 3, 4A y 4B
										Virus de la parotiditis	1
Morbillivirus	18	+	–	+	±	+	+	+	C y N	Virus del sarampión	1
Pneumovirus	14	–	–	–	–	+	–	++	C	Virus respiratorio sincitial	1

HA, hemaglutinina; HL, hemolisina; HD, hemadsorción; NA, neuraminidasa; C, citoplásmicas; N, nucleares; HE, huevo embrionado; CC, cultivos celulares.

siones celulares, la familia *Paramixoviridae* se ha dividido en tres géneros (tabla 63-1).

1. Género *Paramyxovirus*, con un nucleocápside de 18 nm, envoltura con actividad de hemaglutinina, neuraminidasa y hemolisina, e inclusiones citoplásmicas eosinófilas. Comprende los virus parainfluenza 1, 2, 3, 4A, 4B y el virus de la parotiditis.
2. Género *Morbillivirus*, nucleocápside de 18 nm, envoltura con actividad de hemaglutinina y hemolisina, pero no de neuraminidasa; inclusiones eosinófilas citoplásmicas y nucleares. Comprende el virus del sarampión.
3. Género *Pneumovirus*, nucleocápside de 14 nm, envoltura sin actividad de hemaglutinina, neuraminidasa ni hemolisina; inclusiones citoplásmicas eosinófilas. Comprende el virus respiratorio sincitial.

Los paramixovirus penetran por el aparato respiratorio y producen infecciones agudas que afectan con preferencia a la población infantil. Atendiendo a su mecanismo patogénico se pueden distinguir dos grupos netamente diferenciados:

1. Los virus parainfluenza y respiratorio sincitial producen *infecciones localizadas* en las vías respiratorias, que se presentan con extraordinaria frecuencia. Son los virus que infectan más precozmente al recién nacido, y en los niños pequeños son los responsables de gran número de infecciones graves del aparato respiratorio inferior. La inmunidad depende de la existencia de anticuerpos en la mucosa respiratoria (IgA secretora), y por lo general es poco intensa y de corta duración, lo que explica que las reinfecciones sean frecuentes y existan dificultades para preparar una vacuna eficaz.
2. Los virus del sarampión y de la parotiditis, por el contrario, producen *infecciones generalizadas* caracterizadas en que, después de una fase de multiplicación en la mucosa respiratoria, los virus difunden por la sangre y se localizan en la piel, glándulas salivales y otros órganos; afectan a los niños a partir de los 6 meses de edad y producen infecciones muy frecuentes y conocidas. En estos casos, la inmunidad depende de la existencia de anticuerpos séricos (IgM, IgG), que neutralizan el virus en la fase de viremia y evitan la aparición de la enfermedad, la cual por lo general es sólida y de larga duración, lo que explica que las reinfecciones sean menos frecuentes y se hayan preparado vacunas de gran eficacia en la profilaxis de estas enfermedades.

Tabla 63-2. Relaciones antigénicas de los virus parainfluenza humanos con otros paramixovirus que afectan a los animales y al hombre

Virus parainfluenza	Otros paramixovirus	Especie
Tipo 1	Virus Sendai	Ratones y cerdos
Tipo 2	Virus SV-5 y SV-41	Monos
	Virus de la parotiditis	Hombre
Tipo 3	Virus SF-4	Bóvidos

VIRUS PARAINFLUENZA

Son paramixovirus de 100-200 nm de tamaño, con un diámetro del nucleocápside de 18 nm, que presentan en la envoltura dos glicoproteínas (HN y F), la primera con actividad de hemaglutinina y neuraminidasa, y la segunda con actividad hemolítica y de fusión celular. Se han descrito 4 tipos (tipos 1, 2, 3, 4A y 4B), que presentan relaciones antigénicas entre sí, con el virus de la parotiditis y con otros paramixovirus animales (tabla 63-2).

Acción patógena

Producen infecciones respiratorias frecuentes y de gravedad variable, que dependen del tipo de virus y sobre todo de la edad, en relación directa con la producción de primoinfecciones o de reinfecciones (tabla 63-3).

Primoinfección

Producen en su mayoría formas leves que afectan las vías respiratorias superiores, pero también se presentan infecciones de las vías respiratorias inferiores, que son muy características y revisten especial gravedad (tabla 63-3).

Infecciones leves. Son del tipo de sinusitis, rinofaringitis, bronquitis o procesos febriles sin localización. Resultan las más frecuentes.

Infecciones graves. Los virus parainfluenza son los responsables del 20 % de infecciones de las vías respiratorias inferiores, que por lo general se presentan en niños pequeños. Cabe destacar:

Crup o laringotraqueítis obstructiva. Es el cuadro más característico. Los virus parainfluenza son los responsables de más del 50 % de casos, que pueden ser causados por todos los serotipos, en especial por los tipos 1 y 2. Se presenta en niños pequeños y se inicia por una infección de las vías respiratorias superiores con fiebre, seguida de ronquera, tos

Tabla 63-3. Cuadros clínicos producidos por virus parainfluenza

		TRS (rinitis, rinofaringitis)	TRI		
			Bronqnitis	Crup	Bronquiolitis, neumonía
Primoinfección					
Tipos	Edad prevalente				
1	4 meses-5 años	++	++	+++	±
2	4 meses-5 años	++	++	+	±
3	0-6 meses	++	++	++	++
4A y 4B		++	–	–	–
Reinfección					
3 tipos	Niños y adultos	+++	++	±	±

TRS, tracto respiratorio superior; TRI, tracto respiratorio inferior.

perruna y, a veces, estridor, pero que por lo general no requieren traqueotomía.

Bronquiolitis y neumonía. Son poco frecuentes. Se presentan en lactantes y niños pequeños, y están producidas generalmente por el tipo 3.

Las infecciones por el tipo 3 son las más precoces, pues pueden presentarse a partir del primer mes de vida, y también las más frecuentes, ya que ocurren durante todo el año y ocasionan brotes epidémicos en instituciones infantiles. Los tipos 1 y 2 producen infecciones a partir de los 4 meses de edad, que se presentan casi exclusivamente a finales de otoño y comienzos de invierno, y no resulta infrecuente que, en una zona determinada, estos virus predominen en años alternos según fenómenos de inmunidad local y de interferencia. Los tipos 4A y 4B producen infecciones leves de las vías respiratorias superiores, que se presentan con escasa frecuencia. Se calcula que a los 2 años la mayoría de niños han sufrido infecciones por el tipo 3 y a los 5 años por la mayoría de los serotipos.

Reinfecciones

La inmunidad es tipoespecífica y de corta duración y está ligada a la presencia de anticuerpos en la mucosa respiratoria (IgA); son frecuentes las reinfecciones en niños mayores y adultos, que se manifiestan como infecciones inaparentes y cuadros leves de las vías respiratorias superiores, y es uno de los virus que producen con mayor frecuencia cuadros semejantes al resfriado común en adultos y cuadros febriles sin localización o con pequeños síntomas respiratorios en niños, a veces con ronquera por la predilección del virus por la laringe.

Las *complicaciones* bacterianas son poco frecuentes y se han asociado con el síndrome de Reye.

Diagnóstico

Se efectúa por aislamiento del virus o pruebas serológicas. El aislamiento es el método más seguro de diagnóstico, sobre todo en los niños. Se obtienen secreciones faríngeas en los 3 primeros días de enfermedad, que debido a la labilidad del virus deben transportarse en frío e inocularse inmediatamente, a no ser que se conserven por congelación a –60 °C en un medio protector.

Se inoculan en células primarias de riñón de mono o de línea (LLC-MK2), donde se desarrollan lentamente, y se demuestra su crecimiento por hemadsorción (7 y 14 días) en presencia de hematíes de cobayo. El tipo 2 produce, además, sincitios con inclusiones citoplásmicas eosinófilas. Si se inoculan células de riñón de mono, hay que tener en cuenta la posible presencia del virus hemadsorbente del mono SV-5 y es necesario añadir al medio antisuero SV-5 para inhibir su desarrollo. Los virus aislados se identifican por reacciones de inhibición de la hemaglutinación (IH) frente a sueros de referencia. Pueden emplearse técnicas de diagnóstico rápido (IF, ELISA), que permiten demostrar la presencia del virus o sus antígenos en las células del epitelio nasofaríngeo.

El diagnóstico serológico se efectúa por FC o IH frente a dos muestras de suero, cuando se demuestra una seroconversión. Por regla general se practican reacciones de fijación del complemento (FC) en batería frente a todos los posibles agentes causales del síndrome (virus, rickettsias, clamidias). También pueden emplearse reacciones de IF indirecta, RIA y ELISA, e incluso la determinación de anticuerpos ligados a las IgM, que pueden ser diagnósticos en una sola muestra.

Debido a las relaciones antigénicas existentes entre los diferentes tipos de virus parainfluenza y del tipo 2 con el virus de la parotiditis, la infección por un tipo produce no sólo anticuerpos frente a este tipo (anticuerpos homólogos), sino, además, frente a virus relacionados que hayan infectado anteriormente al enfermo (anticuerpos heterólogos), de ordinario frente al tipo 3, que es el más precoz y frecuente. Esto hace que, aun en presencia de una seroconversión frente a uno de los tipos, no pueda asegurarse con certeza el tipo causal, en ausencia del aislamiento del virus, y deba interpretarse únicamente como una infección por virus parainfluenza.

Tratamiento y profilaxis

La amantadina y rimantadina parecen tener una acción inhibidora *in vitro* sobre los virus parainfluenza y el interfe-

rón parece tenerla sobre el tipo 1, pero los ensayos en voluntarios no han dado buenos resultados. También se intentan obtener por síntesis análogos del factor de fusión que actuarían por inhibición competitiva, bloqueando los receptores celulares.

Las vacunas inactivadas monovalentes y polivalentes inducen la aparición de anticuerpos, pero no confieren protección en el curso de brotes epidémicos. A diferencia del virus RS, los vacunados con virus parainfluenza no presentan formas más graves. Se estudia la administración de mutantes atenuadas por vía intranasal.

VIRUS RESPIRATORIO SINCITIAL

Es un paramixovirus de 100 a 300 nm, que se incluye en el género *Pneumovirus* por tener un diámetro del nucleocápside de 14 nm y proyecciones en forma de maza que no presentan actividad de hemaglutinina, ni de neuraminidasa, pero que están relacionadas con la adherencia a las células y fenómenos de fusión celular. Se conoce un serotipo con diversas variantes o subtipos.

Es el virus más sensible a la acción de los agentes externos; la congelación y las variaciones de pH y temperatura rápidamente lo inactivan.

Acción patógena

El virus RS se multiplica de ordinario en la mucosa nasal o faríngea produciendo infecciones inaparentes, que se detectan por serología y cuadros leves de las vías respiratorias superiores, pero en los niños muy pequeños, especialmente en los lactantes, puede afectar la tráquea, bronquios y bronquiolos, e incluso alveolos pulmonares, y es la causa más importante de infecciones de las vías respiratorias inferiores, que revisten una mayor gravedad. Se considera la causa principal de hospitalización por afecciones respiratorias en los niños menores de 5 años y en los recién nacidos de 1 a 3 meses.

Es uno de los virus que infecta más pronto al recién nacido, pues, como la inmunidad se encuentra asociada con la presencia de anticuerpos específicos en la mucosa respiratoria (IgA) que no atraviesan la placenta, el recién nacido no presenta inmunidad pasiva de origen materno, de manera que la primoinfección es muy precoz y aparece en forma de un brote anual que se presenta en invierno. Los cuadros clínicos que produce con mayor frecuencia son los siguientes:

Bronquiolitis y neumonía

La primoinfección en los niños menores de 1 año produce por lo general infecciones graves de las vías respiratorias inferiores y es la responsable del 50 % de bronquiolitis y del 25 % de neumonías, cuadros que son difíciles de diferenciar. El pronóstico es especialmente malo en niños de familias con antecedentes alérgicos, y puede ser la causa de casos de «muerte en la cuna».

Recientemente se ha demostrado que los niños que han padecido cuadros de bronquiolitis presentan una mayor predisposición (× 3) a padecer procesos asmáticos en edades posteriores.

Formas leves

Se producen ocasionalmente en los lactantes, pero con mayor frecuencia en niños de 3-5 años de edad; en niños mayores se observan cuadros benignos de rinofaringitis y bronquitis y en los adultos, cuadros de sinusitis afebril semejantes al resfriado común, que por lo general son reinfecciones. En los adultos, estos cuadros menores pueden ser la causa de reactivaciones en bronquíticos crónicos y asmáticos.

Infecciones hospitalarias

Como el virus RS produce infecciones frecuentes, con eliminación del virus durante largo tiempo, los enfermos son muy contagiosos. Por tanto, en las salas de pediatría de los hospitales a partir de los niños o del personal enfermo, la infección difunde con facilidad, especialmente en las salas de cuidados intensivos, con niños afectos de procesos graves que presentan la máxima susceptibilidad, y se producen infecciones de las vías respiratorias inferiores asociadas con una mortalidad variable (± 30 %).

El hecho de que los cuadros más graves se presenten en los primeros meses de vida, cuando aún existen en el suero anticuerpos de origen materno (IgG) que no tienen acción protectora, ha hecho suponer que quizá los cuadros de bronquiolitis no serían producidos por acción directa del virus, sino por mecanismo inmunológico, en especial por la formación de complejos inmunes. Se trataría de fenómenos de hipersensibilidad de tipo 3 semejantes al cuadro denominado «pulmón de granjero», producido por la formación, precipitación y fijación de complejos inmunes en la pared de los vasos y bronquiolos, que no han podido demostrarse. También se han invocado reacciones de hipersensibilidad de tipo 1 y 4, así como por acción directa del virus sobre los bronquiolos, en niños que tenían el sistema inmunológico inmaduro.

Como consecuencia de la infección se produce una inmunidad local de la mucosa respiratoria (IgA), que es poco intensa y de corta duración, lo cual explica la frecuencia de las reinfecciones, que por lo general se traducen por cuadros más benignos.

Diagnóstico

Se efectúa por aislamiento del virus y serología. Para su aislamiento se parte de las secreciones faríngeas obtenidas por frotis o aspiración. Hay que tener en cuenta que es un virus muy lábil, que en los productos del enfermo conserva su viabilidad a temperatura ambiente de 1-7 horas según la temperatura y humedad, lo que exige que las muestras deban ser transportadas e inoculadas rápidamente. Por esto, se obtiene una mayor proporción de resultados positivos, si se practica la inoculación a la cabecera del enfermo, de manera que el virus esté expuesto el menor tiempo posible a los agentes externos. Debe practicarse la inoculación con una cepa sensible de células de origen humano (HeLa, KB, HEp-2); el desarrollo del virus se detecta a los 7-15 días por la aparición de las típicas células gigantes con inclusiones eosinófilas citoplásmicas (fig. 63-2).

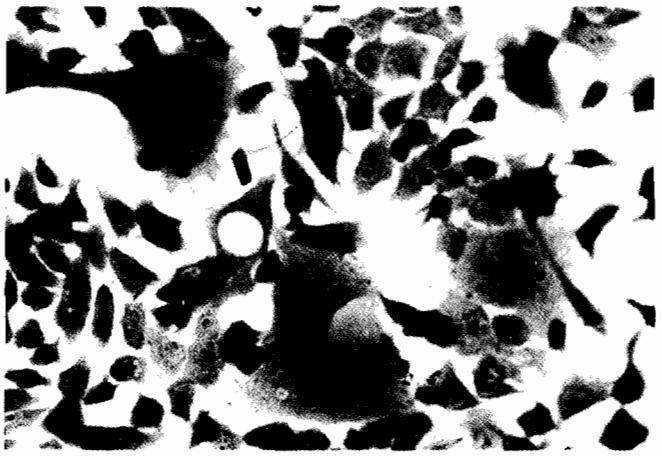


Fig. 63-2. Cultivo de células KB. Acción citopática del virus respiratorio sincitial. Formación de células gigantes.

El virus también puede detectarse e identificarse en el citoplasma de las células infectadas por inmunofluorescencia, ya en las células de los cultivos a las 10-24 horas de la inoculación o por examen directo de las células faríngeas del enfermo, lo que permite el diagnóstico rápido del cuadro.

El diagnóstico serológico se efectúa demostrando una seroconversión en dos muestras de suero, mediante la reacción de fijación del complemento (tests en batería), y hay que tener presente que, debido a la corta duración de la enfermedad y a la necesidad de obtener dos muestras de suero, el diagnóstico por lo general es retrospectivo y puede, además, ser negativo en los lactantes. En estos casos, el método inmunoenzimático ELISA por su mayor sensibilidad puede ser de utilidad para el diagnóstico de los niños más pequeños.

Tratamiento y profilaxis

Se ha observado que la amantadina, rimantadina e interferón tienen cierta acción inhibidora *in vitro* sobre el virus, y existen algunas observaciones en favor de una actividad terapéutica del interferón en el recién nacido. Hasta el presente no ha podido obtenerse una vacuna eficaz. Las vacunas inactivadas no confieren protección e incluso pueden producir una enfermedad más grave en los vacunados. Las vacunas preparadas con mutantes termosensibles no son genéticamente estables y las preparadas por pases seriados del virus en células diploides y administradas por vía parenteral no han demostrado protección en período epidémico. Los estudios se dirigen al ensayo de vacunas atenuadas y de vacunas con antígenos purificados administradas por vía oral, que contengan las diversas variantes antigénicas del virus.

Por otra parte, se ha observado que el riesgo de padecer una infección grave de las vías respiratorias inferiores es menor en los niños con lactancia materna.

En las salas de pediatría es muy importante evitar la transmisión mediante el lavado frecuente de las manos y la separación del personal con infecciones respiratorias del cuidado de los niños enfermos, en especial en las unidades de vigilancia intensiva.

VIRUS DE LA PAROTIDITIS

Tiene un tamaño de 180-200 nm, un diámetro del nucleocápside de 18 nm y dos tipos de proyecciones en su envoltura, una con actividad de hemaglutinina y de neuraminidasa, y la otra con actividad de fusión celular y hemolisina. Presenta un antígeno soluble que se identifica con el nucleocápside y se demuestra por reacciones de FC y un antígeno vírico ligado a las glicoproteínas de la envoltura, que se demuestra por FC e IH. Existe un solo tipo antigénico, que está relacionado con el virus parainfluenza 2.

Patogenia

Es el agente causal de la mayoría de casos de parotiditis o paperas, afección inflamatoria de las glándulas salivales, en especial de las parótidas, que afecta especialmente la segunda infancia y a niños, adolescentes y jóvenes adultos. El grupo de 5-9 años es el más afectado y a los 10 años la mayoría de niños han sufrido la infección.

Es una enfermedad infecciosa endemoepidémica que presenta una capacidad de difusión menor que el sarampión y que da lugar a casos esporádicos durante todo el año y brotes epidémicos en invierno (enero-mayo), cada 2-7 años en la población, sobre todo donde se concentra la población susceptible, en escuelas, orfelinatos, asilos y campamentos militares.

El período de contagio se extiende de 5 a 7 días antes y después del comienzo de la enfermedad. El virus se encuentra en la saliva, se transmite por contagio directo y vía aérea, llega a las células del epitelio respiratorio donde se multiplica y después de una fase de viremia se localiza en las glándulas salivales y diversos órganos (testículos, páncreas, SNC).

Cuadros clínicos

El período de incubación es de 18-21 días y pueden presentarse los siguientes cuadros:

Parotiditis

La enfermedad comienza bruscamente con fiebre, cefalalgia y vómitos, seguidos de la tumefacción de una o ambas glándulas parótidas (fig. 63-3), que se manifiesta por un dolor agudo al abrir la boca (*trismus*) con dificultad al hablar y masticar.

Se observa edema del orificio del conducto de Stenon y muchas veces afectación de las glándulas salivales (submaxilares y sublinguales).

Meningitis sin parotiditis (meningitis urliana)

Es un cuadro de meningitis aséptica o no purulenta (cefalalgia, vómitos, rigidez de nuca y pleocitosis del LCR), generalmente sin afectación encefálica y con pocas secuelas; la sordera monolateral es la más frecuente. El virus de la parotiditis es la causa más frecuente de meningitis asépticas

Fig. 63-3. Parotiditis. (Por cortesía del Dr. Verger.)

en la infancia. A diferencia del sarampión, no se observan electroencefalogramas anormales.

Laringitis, bronquiolitis y neumonía

Pueden presentarse en niños pequeños.

Formas menores

A veces, la tumefacción parotídea es muy ligera o no se presenta, y el proceso febril con vómitos domina el cuadro. Son casos frecuentes que por lo general pasan inadvertidos si no existe un antecedente de contacto o se han producido en el curso de un brote epidémico.

Infecciones inaparentes

Son muy frecuentes (20-40 %) y junto con las formas menores son las responsables de que el 50 % de adultos sin historia anterior de parotiditis presenten anticuerpos. En general se considera que, a los 10 años, el 60-80 % de niños han sido afectados.

La infección produce una *inmunidad*, que dura prácticamente toda la vida, de manera que el recién nacido presenta anticuerpos que lo protegen durante los primeros 6 meses.

Complicaciones

La más frecuente es la *orquiepididimitis*, que se presenta en el 20 % de casos, a los 5-7 días de la parotiditis. Generalmente es monolateral, pero a veces puede afectar la otra glándula y ser causa de esterilidad. También es frecuente la *afectación del SNC*, pues en el 50 % de casos de parotiditis se observa pleocitosis del LCR y en el 10 %, una meningitis benigna sin secuelas. Rara vez aparecen cuadros de encefalitis graves (1 × 400). También pueden presentarse casos de pancreatitis y anexitis y se han relacionado con la fibroelastosis endocárdica.

Diagnóstico

Es generalmente clínico y sólo en los casos atípicos se recurre al laboratorio. Existen pruebas inespecíficas, como el aumento de amilasa en suero, que es muy constante, pero que no debe interpretarse como signo de pancreatitis.

El aislamiento del virus se efectúa con facilidad a partir de la saliva (5 días), LCR (3 días) y orina (15 días), por inoculación en el saco amniótico del huevo embrionado o en cultivos de células primarias de riñón de mono o embrión humano, y se demuestra su desarrollo por hemaglutinación o hemadsorción, respectivamente, con hematíes de pollo o de cobayo. El virus aislado se identifica por reacciones de IH y de inhibición de la hemadsorción con sueros de referencia. Se pueden emplear métodos de diagnóstico rápido (IF, ELISA, RIA) para detectar el virus en las secreciones respiratorias y en las células del LCR.

El diagnóstico serológico por reacciones de FC ha sido el más utilizado. Los anticuerpos frente al antígeno soluble aparecen precozmente (5-6 días) y desaparecen rápidamente en la convalecencia, mientras que frente al antígeno vírico son más tardíos (8-10 días) y persisten durante años. El diagnóstico se efectúa por la demostración de una seroconversión en dos muestras de suero o en una sola muestra obtenida en la convalecencia cuando el título es elevado; así, cuando se obtienen títulos elevados frente a los antígenos S y V, o altos frente al antígeno S y bajos con el antígeno V, son sinónimos de infección actual o reciente, mientras que un título elevado frente al antígeno V y negativo frente al antígeno S indica infección anterior. Hay que tener en cuenta las reacciones heterólogas con los virus parainfluenza, como consecuencia de infecciones anteriores. En general, las reacciones de FC e IH son poco sensibles y en la actualidad se prefieren por su mayor sensibilidad la IF y sobre todo ELISA, porque permiten determinar por separado las IgG y las IgM.

Profilaxis

Vacuna de la parotiditis

Se prepara con la mutante atenuada Jeryl-Linn, obtenida por pases en huevo embrionado y en fibroblastos de embrión de pollo. Es una vacuna liofilizada, que se conserva en el frigorífico durante 1 año y debe transportarse a temperaturas inferiores a 22 °C.

La vacuna es inocua y eficaz. La administración de una dosis por vía subcutánea produce un 95 % de seroconversiones y deja una inmunidad de larga duración, que permite las reinfecciones subclínicas que actúan como dosis de refuerzo.

Aunque la parotiditis es una enfermedad benigna que presenta escasa mortalidad, el hecho de ser la causa más frecuente de meningitis aséptica en la infancia, sordera y

cierto número de casos de esterilidad en el varón es razón suficiente para aconsejar la vacunación, que puede realizarse:

1. *Con vacuna única* para la inmunización de: *a)* niños mayores, adolescentes y adultos sin historia anterior de parotiditis y *b)* niños que viven en colectividades e instituciones donde la parotiditis constituye un riesgo.
2. *Con vacuna combinada* (triple vírica) para la inmunización sistemática de la población infantil a los 12-15 meses.

Presenta las mismas contraindicaciones de las vacunas con virus atenuados (enfermedades febriles, inmunodeficiencias, embarazo, inmunoglobulinas).

Inmunización pasiva

La inmunoglobulina se puede administrar en las personas con riesgo elevado (embarazadas, varones después de la pubertad, niños con enfermedades graves). Debe administrarse a dosis elevadas, pero su eficacia es dudosa.

VIRUS DEL SARAMPION

Es un virus perteneciente al género *Morbillivirus*, caracterizado por un tamaño de 120-250 nm, la presencia en la envoltura de proyecciones con actividad de hemaglutinina, pero no de neuraminidasa, y la presencia de una proteína en la membrana responsable de la hemólisis y fusión celular. Aparecen en las células infectadas inclusiones eosinófilas citoplásmicas y nucleares. La hemaglutinina es responsable del fenómeno de hemadsorción y hemaglutinación con hematíes de mono, que es irreversible por no tener actividad de neuraminidasa, y la hemolisina facilita la penetración del virus ya fijado en las células. Presenta un antígeno común en la envoltura y en el nucleocápside, que se demuestra por reacciones de IH y FC, respectivamente.

Existe un solo serotipo relacionado con el virus del moquillo del perro y de la peste bovina.

Por adaptación al saco amniótico del huevo embrionado se han obtenido cepas de virulencia atenuada (cepa Edmonston) e hiperatenuada (cepas Schwarz) que se emplean en la preparación de la vacuna, la cual es muy eficaz en la prevención de la enfermedad.

Patogenia

El virus penetra por la orofaringe o conjuntiva, se replica en las células de las vías respiratorias superiores, difunde por los linfáticos y la sangre (viremia primaria) y es transportado por los leucocitos a las células del SRE (hígado, bazo, pulmón, amígdalas), donde se multiplica produciendo las típicas células gigantes de Warthin-Finkeldey, las cuales al necrosarse liberan el virus que da lugar a una nueva fase de viremia (viremia secundaria). El virus se desarrolla en los linfocitos y macrófagos, y es probablemente la causa de la depresión temporal de la inmunidad celular que presentan estos enfermos.

A consecuencia de la viremia se afecta toda la mucosa respiratoria, responsable del período catarral. A los pocos días se inicia la erupción que coincide con la aparición de los anticuerpos; se supone que, al reaccionar los anticuerpos con los antígenos del virus que se encuentran en la membrana de las células infectadas de la piel y del endotelio capilar, se produce la típica erupción, que sería debida a fenómenos de hipersensibilidad celular. Se ha observado que en las inmunodeficiencias de base humoral (linfocitos B) se produce un típico sarampión con exantema, mientras que, cuando se afectan los linfocitos T, la infección produce una neumonía de células gigantes (neumonía de Hecht) de curso fatal, sin la aparición del típico exantema. Durante la enfermedad es frecuente la observación de electroencefalogramas anormales, que indican la afectación del cerebro por el virus.

Es una enfermedad endemoepidémica, de gran poder de difusión, que se transmite por vía aérea. En general, el recién nacido presenta anticuerpos pasivos, que lo protegen durante los primeros 6 meses y pueden persistir hasta los 12-15 meses. La enfermedad se presenta a partir de esta edad en forma endémica o en brotes epidémicos, cada 2-3 años en el medio urbano y cada 4-6 años en el medio rural, cuando la proporción de susceptibles alcanza el 40 %. Aparece a fines de invierno y primavera, y no existen por lo general formas subclínicas, de manera que antes de los 10 años el 99 % de la población ha padecido la enfermedad. El sarampión no puede considerarse una enfermedad benigna, pues, aunque las tasas de mortalidad son bajas (1 × 1.000), debido a su extraordinaria frecuencia, las cifras absolutas de mortalidad son importantes.

Cuadros clínicos

Afecta generalmente la primera infancia, y pueden presentarse las siguientes formas clínicas y complicaciones:

Sarampión típico

Tiene un período de incubación de 10 días, seguido de un período catarral (4 días), con fiebre, tos, estornudos, conjuntivitis, rinorrea y un exantema bucal con las típicas manchas de Köplik (máculas con centro gris). A continuación aparece una erupción maculopapulosa, que se inicia en la región retroauricular, se extiende por todo el cuerpo en 3-4 días y persiste durante 1 semana. Deja una inmunidad de larga duración, probablemente para toda la vida, ligada a la presencia de anticuerpos y fenómenos de inmunidad celular.

El período de contagio abarca 6-8 días, desde finales del período de incubación hasta los dos primeros días del exantema.

Sarampión leve o atípico

Se produce cuando el niño presenta cierto grado de inmunidad debido a la presencia de anticuerpos en su suero, como consecuencia de vacunación, administración de inmunoglobulinas o, en los menores de 1 año, por la persistencia de anticuerpos maternos. En estos casos se presenta un cuadro febril muy leve, en el que pueden faltar todos los síntomas típicos o algunos de ellos (conjuntivitis, manchas de Köplik, exantema).

Sarampión grave

Se presenta cuando la infección afecta a huéspedes con:

1. Deficiencias importantes del estado nutritivo (malnutrición), como ocurre en los países en vías de desarrollo, donde el sarampión constituye una de las causas más importantes de mortalidad infantil (5 %).
2. Deficiencias de inmunidad celular. En estos casos se presenta la *neumonía de células gigantes* de Hecht, de tipo intersticial, sin la aparición del exantema. Es un cuadro progresivo y generalmente fatal, que puede demostrarse en la autopsia por la presencia de células gigantes en los pulmones (células de Warthin-Finkeldey).

Complicaciones

Las más importantes son:

Complicaciones bacterianas

El sarampión predispone a la aparición de infecciones bacterianas secundarias (5 %) del tipo de otitis, bronquitis y bronconeumonías que son la causa de los casos graves. Por otra parte, el sarampión en un enfermo tuberculoso puede producir la reactivación o diseminación del proceso debido a interferencia temporal de los mecanismos de inmunidad celular, como se demuestra porque la reacción de la tuberculina se negativiza durante el mes siguiente al sarampión o a la vacunación.

Encefalitis o encefalomielitis postinfecciosa

Es la complicación más importante, que aparece a los 2-4 días del exantema en 1 × 1.000 enfermos (encefalitis precoz), con un 15 % de mortalidad y 40 % de secuelas en los supervivientes. Se considera debida a fenómenos de hipersensibilidad retardada y no ha podido aislarse el virus a partir del sistema nervioso.

Panencefalitis esclerosante subaguda

Es una encefalitis que aparece al cabo de varios años de haber padecido el sarampión (5-10 casos por 1 millón de enfermos). Se considera una enfermedad crónica y progresiva del sistema nervioso central (infección lenta), producida por el propio virus, y se ha demostrado la presencia de nucleocápsides y cuerpos de inclusión en las células del cerebro infectadas y aislado el virus por cultivo mixto con células HeLa. Se ha supuesto que la infección sería producida por un virus defectivo, que induciría la síntesis de una proteína M modificada y no funcional, que inhibiría la maduración normal del virus.

Por otra parte, el sarampión se relaciona con la *esclerosis en placas*, pues se ha observado en los enfermos la presencia de anticuerpos a título elevado.

Diagnóstico

Es fundamentalmente clínico y sólo en casos especiales se recurre a los métodos de aislamiento y serológicos.

El aislamiento es difícil y se efectúa a partir de secreciones nasales, faríngeas o conjuntivales, obtenidas durante el período catarral o en los 2 primeros días del exantema, que deben inocularse rápidamente en células primarias, en especial en células amnióticas o renales de embrión humano. El desarrollo del virus se demuestra por hemadsorción, hemaglutinación o hemólisis con hematíes de mono; a los 7 días se desarrollan células gigantes con inclusiones eosinófilas citoplásmicas y, además, nucleares, y puede confirmarse la identificación por inmunofluorescencia directa.

También puede efectuarse un diagnóstico rápido durante el período catarral, pues en los frotis de moco nasal, amígdalas y adenoides (SRE) puede detectarse la presencia del virus por inmunofluorescencia.

El diagnóstico serológico se efectúa por la demostración de un aumento significativo del título de anticuerpos en dos muestras de suero, fundamentalmente por la reacción de inhibición de la hemaglutinación (IH), o de títulos elevados en el suero y LCR en una sola muestra, en los casos de panencefalitis. Sin embargo, como los anticuerpos aparecen precozmente con el exantema y persisten durante mucho tiempo, es difícil detectar una seroconversión y la demostración de un título elevado en una sola muestra no es significativa, a no ser que se trate de IgM (IF, ELISA, RIA). Hoy se prefieren las reacciones de IF y ELISA por su mayor sensibilidad y la posibilidad de determinar por separado las IgG e IgM.

Tratamiento

Se administran antibióticos para el tratamiento de las complicaciones bacterianas.

Profilaxis

Vacuna del sarampión

Se han obtenido mutantes atenuadas (cepas Edmonston) por pases seriados del virus en cultivos de diversos tipos de células (células amnióticas y renales humanas, saco amniótico del huevo embrionado y fibroblastos de embrión de pollo). En la actualidad, la vacuna se prepara con cepas hiperatenuadas (cepas Schwarz) que producen un mínimo de reacciones (fiebre en el 10-15 % de vacunados y, rara vez, manifestaciones catarrales o un exantema fugaz). Las complicaciones neurológicas son muy raras, el riesgo de padecer una encefalitis es mucho menos (1 × 1 millón de vacunados) y la panencefalitis es diez veces menos frecuente que en la infección natural.

Es una vacuna liofilizada, que se puede conservar en el frigorífico durante 1 año, pero, una vez diluida, debe administrarse de inmediato, pues debido a la fragilidad del virus se inactiva con rapidez. Se administra una dosis por vía subcutánea a los 12-15 meses de edad, según las condiciones epidemiológicas de la zona, en especial de la edad en que aparecen la mayoría de infecciones y de la proporción de niños con anticuerpos pasivos de origen materno que pueden interferir en la vacunación. Produce un 95 % de seroconversiones y una inmunidad prolongada (15 años), aunque no se conoce con certeza su duración. Las reinfecciones actúan como dosis de recuerdo.

La vacunación está indicada en forma sistemática en todos los niños para evitar los riesgos del sarampión, ya como

vacuna única o como combinada triple vírica (sarampión, parotiditis y rubéola). Produce una gran disminución de las cifras de morbilidad y mortalidad, permite yugular epidemias e, incluso administrada a los contactos en las primeras 48 horas, evita la aparición de la enfermedad. En los países con vacunación sistemática se estudia la posibilidad de administrar dosis de recuerdo, que en la actualidad se dirigen a evitar los fallos de la vacunación. Hoy día se considera que se puede llegar a la erradicación o mejor a la eliminación del sarampión, manteniendo una tasa de cobertura vacunal elevada en la población (90 %), mediante la vacunación sistemática de todos los recién nacidos a los 12-15 meses, el control de la población escolar y la vigilancia epidemiológica que permita conocer la población susceptible.

Inmunización pasiva

La protección con inmunoglobulina está indicada en las personas susceptibles de elevado riesgo, en los casos de contraindicación de la vacuna (inmunosupresión, inmunodeficiencias, menores de 1 año, embarazadas) y también cuando se ha producido una vacunación inadvertida con la finalidad de atenuar la reacción febril.

Si se administra una dosis de 0,2 ml/kg de peso en los primeros 4-6 días después del contacto, se evita la aparición de la enfermedad (seroprevención). A partir de los 6 días no se previene la enfermedad, pero puede atenuarse la reacción febril (seroatenuación). En niños con inmunodeficiencias puede aumentarse la dosis.

Coronavirus

La familia *Coronaviridae* está constituida por virus esféricos o pleomorfos, de tamaño medio (60-160 nm), caracterizados por presentar una envoltura con proyecciones de 20 nm, constituidas por dos glicoproteínas y que, a diferencia de las de los mixovirus, son más gruesas y espaciadas, con la extremidad redondeada en forma de pétalo o de maza, que simula una corona solar. Contienen un nucleocapside, de simetría helicoidal (11-13 nm de diámetro), compuesto por una cadena de ARN, probablemente de polaridad positiva y carácter infeccioso, asociada con moléculas de nucleoproteína.

Son virus muy sensibles al éter y a los ácidos, que se desarrollan en el citoplasma y maduran por evaginación del retículo endoplásmico. Las proyecciones presentan actividad de hemaglutinina, pero no de neuraminidasa, produciendo la aglutinación de los glóbulos rojos humanos y de mono a 37 °C. En los cultivos celulares, por el contrario, no se produce el fenómeno de hemadsorción, debido a que, al madurar a través de vesículas citoplásmicas, la membrana externa no contiene hemaglutininas.

Comprende una serie de virus que producen infecciones en diversas especies animales, como los virus de la bronquitis infecciosa de las gallinas, hepatitis murina, gastroenteritis infecciosa de los cerdos, diarrea infecciosa de los perros y diarrea neonatal de los terneros, que tienen una gran importancia económica, pero a partir de 1965 se han aislado coronavirus en el hombre, en especial a partir de procesos de las vías respiratorias superiores, y recientemente se han observado también en las heces.

Los coronavirus humanos son difíciles de cultivar a partir de los productos del enfermo. Las cepas aisladas del hombre se han dividido en tres tipos antigénicos. Sólo una cepa (tipo 229E) se ha desarrollado en cultivos de células diploides humanas (WI-38), mientras que la mayoría se han aislado en cultivos de órganos de tráquea humana embrionaria (tipos OC-43 y B-814); su crecimiento se ha demostrado por el cese del movimiento ciliar y los virus se han observado por microscopia electrónica o microscopia electrónica inmune. Sin embargo algunas cepas han podido adaptarse en cultivos celulares (tipos 229-E y OC-43), lo que ha permitido la práctica de encuestas serológicas en la población, mediante reacciones de neutralización, fijación del complemento y la técnica ELISA. El tipo OC-43 se ha adaptado al cerebro del ratón lactante, y se ha observado que la cepa adaptada aglutina los glóbulos rojos, lo que permite utilizar reacciones de IH. Por reacciones de neutralización se ha demostrado que alrededor del 50 % de niños de 5-7 años y el 80 % de adultos presentan anticuerpos indicativos de infecciones anteriores.

Por inoculación de voluntarios por vía nasal, los virus se multiplican en la mucosa de las vías respiratorias superiores y a los 3 días, en coincidencia con la aparición de los síntomas, pueden demostrarse en la secreción nasal.

La mayoría de coronavirus se han aislado de procesos respiratorios del tipo del resfriado común (rinitis o faringitis con febrícula, cefalalgia y malestar) en invierno o primavera, y se ha conseguido reproducir la enfermedad por inoculación de voluntarios. En los niños menores de 2 años también se han aislado de infecciones de las vías respiratorias inferiores, en especial de neumonías, aunque por encuestas serológicas en niños hospitalizados no parece que intervengan con frecuencia en estos casos.

En los niños mayores, adolescentes y adultos producen cuadros de resfriado común e intervienen en la reactivación de procesos asmáticos y de bronquitis crónica. Se calcula que aproximadamente del 15-20 % de resfriados en invierno y primavera son producidos por coronavirus. Presentan la misma sintomatología que los producidos por rinovirus, con un período de incubación más largo y menor duración de la enfermedad. Se presentan en forma de grandes brotes epidémicos producidos por un tipo antigénico que sustituye los virus de años anteriores. La primoinfección ocurre en general en la infancia, con una máxima incidencia en el grupo de 15-20 años, y se producen con frecuencia reinfecciones. Se calcula que el 50 % son infecciones inaparentes.

Los coronavirus se pueden demostrar en las muestras clínicas, dada su especial morfología por microscopia electrónica (ME) y también por ELISA. Se aíslan a partir de las secreciones nasales en cultivo de órganos (epitelio nasal o traqueal embrionario). El tipo 229-E y cepas relacionadas se cultivan, aunque con dificultad, en células diploides con producción de alteraciones citopáticas inespecíficas. El crecimiento se demuestra por ME o MEI. Empleando como antígenos las cepas adaptadas 229-E y OC-43, pueden practicarse reacciones serológicas, en especial reacciones de NT, FC, IH (tipo OC-43) e incluso ELISA, que permitan demos-

trar un aumento del título de anticuerpo frente a los tipos utilizados como antígenos o antígenos relacionados. El método más empleado es la reacción de FC y de IH para los tipos OC.

Recientemente se han observado coronavirus en las heces de niños y adultos jóvenes con diarrea, lo que ha sugerido su posible intervención en los cuadros de gastroenteritis. Son virus difíciles de cultivar y sólo en pocos casos se han aislado en cultivos de órganos (intestino embrionario).

El hallazgo de una técnica de rutina para el aislamiento y cultivo de los coronavirus humanos posibilitaría los estudios antigénicos y epidemiológicos y permitiría valorar la eficacia de diversos métodos de profilaxis.

BIBLIOGRAFIA

Evans, A. S.: Viral infections in humans. Wiley, London, 1976.
Fenner, F., y White, D. O.: Medical Virology, 2.ª ed. Academic Press, New York, 1976.
Fraser, K. B., y Martin, S. J.: Measles virus and its biology. Academic Press, New York, 1978.
Gardner, P. S., y McQuillin, J.: Rapid virus diagnosis application of immunofluorescence, 2.ª ed. Butterworths, London, 1980.
Krugman, R. D.; Measles immunization: New recommendations. JAMA, 237, 366-369, 1977.
McIntosh, K., y Fishaut, M. J.: Immunopathological mechanisms in lower respiratory tract disease of infants due to RS. Progr. Med. Virol., 26, 94-106, 1980.
Monto, A. S.: Medical reviews: Coronaviruses. Yale J. Biol. Med., 47, 234-251, 1974.

Capítulo 64

Virus de la rubéola

Agustín Pumarola

PROPIEDADES Y CLASIFICACION

Se incluye en la familia *Togaviridae*, género *Rubivirus*. Presenta un diámetro de 60-80 nm y está compuesto por un cápside, de simetría probablemente icosaédrica, que contiene una cadena de ARN con polaridad positiva, que presenta carácter infeccioso, todo ello rodeado de una envoltura laxa, cubierta de proyecciones cortas que presentan actividad de hemaglutinina. Contiene, además, antígenos fijadores del complemento y dos antígenos precipitantes (theta e iota) que inducen anticuerpos durante la infección natural y se consideran responsables de la inmunidad a la reinfección. Existe un solo serotipo que no presenta relaciones antigénicas con los demás togavirus ni se transmite por artrópodos. Es un virus frágil, y en los cultivos celulares produce por lo general infecciones crónicas que pueden demostrarse por IF o interferencia con la acción citopática de otro virus conocido (enterovirus) que se inocule posteriormente. En los cultivos de células primarias de origen humano produce alteraciones discretas que se manifiestan porque las células se redondean, aumentan de tamaño y emiten prolongaciones, se producen acumulaciones de cromatina y se observan inclusiones citoplásmicas eosinófilas. En las células se detectan roturas de cromosomas que pueden estar relacionadas con las lesiones que se producen en el embrión y el feto.

ACCION PATOGENA

La rubeola es una infección endemoepidémica que se transmite por contacto y vía aérea, al igual que el sarampión, pero de menor poder de difusión; se presenta en forma de casos esporádicos familiares, generalmente en primavera, y brotes epidémicos polianuales (cada 6-9 años), que afectan con preferencia a los niños menores de 15 años y en ocasiones a los adultos; son frecuentes las infecciones inaparentes. Esto hace que la mayoría de la población (80-95 %) presente anticuerpos y sea inmune a la reinfección. Alrededor del 15 % de mujeres en edad fértil no presentan pruebas serológicas de una infección anterior.

El virus se multiplica en las células del epitelio respiratorio superior, llega a los ganglios linfáticos y después de una fase de viremia difunde por el organismo y se localiza especialmente en la piel, mucosa respiratoria y otros órganos.

CUADROS CLINICOS

Rubeola posnatal

Es una enfermedad extraordinariamente benigna, que cursa sin fiebre o con febrícula, caracterizada por un período de incubación de 18 días por término medio, seguido de un proceso catarral de las vías respiratorias superiores con hipertrofia de los ganglios linfáticos occipitales y mastoideos, y la aparición del típico exantema maculopapuloso de color rosa pálido, que se inicia en la cara y se extiende por el cuerpo con 2-3 días de duración, asociado con linfadenopatías generalizadas. Se han observado *formas menores sin exantema*, con pequeños síntomas respiratorios. El virus se encuentra en la faringe desde 1 semana antes del comienzo de la enfermedad hasta 2 semanas después.

La enfermedad es benigna y deja inmunidad para toda la vida. Las complicaciones, a excepción de las artralgias que se pueden presentar en el 30 % de mujeres adultas, son por lo general raras, así como las manifestaciones hemorrágicas y la encefalitis (1 × 6.000 casos).

Hay que tener en cuenta que pueden presentarse exantemas semejantes en infecciones producidas por otros virus (enterovirus) y en procesos alérgicos, de manera que el diagnóstico clínico de rubéola o de haberla sufrido en la infancia muchas veces no puede establecerse con seguridad.

Rubeola congénita

Cuando la gestante padece la rubeola, el virus puede atravesar la placenta y producir una infección del embrión o del feto, que debido a su escasa acción citocida no siempre ocasiona su muerte.

Malformaciones congénitas

Cuando la infección ocurre durante el primer trimestre del embarazo, puede producirse la infección del embrión. Durante este período no existe protección por anticuerpos maternos y, más tarde, la aparición de anticuerpos, de origen materno o fetal, no afecta el virus en situación intracelular, lo que produce una infección persistente. La existencia de pequeños focos de células infectadas en diversos

órganos y tejidos, con divisiones celulares a ritmo lento como consecuencia de su escasa acción patógena y ausencia de síntesis de interferón, puede alterar el proceso normal de la organogénesis y dar lugar a la aparición de malformaciones congénitas en el recién nacido, hecho que fue observado por el oftalmólogo australiano Gregg, en 1941. Las alteraciones más frecuentes son la sordera, cataratas, glaucoma y cardiopatías congénitas y las menos frecuentes, las anomalías dentarias, microcefalia y retraso mental, que según el período de la gestación pueden presentarse en forma aislada o asociadas en combinaciones diversas, y han recibido el nombre de embriopatía rubeólica o síndrome de Gregg (tabla 64-1). Cuando la infección ocurre durante el segundo trimestre, el riesgo es menor, y la sordera es el defecto predominante; a los 8 meses de gestación, el riesgo es mínimo.

La persistencia y eliminación del virus durante el primer año de vida hacen que el recién nacido sea muy contagioso y que algunas de estas lesiones (sordera, cataratas, retraso mental) puedan progresar después del nacimiento. Por otra parte, encuestas prospectivas han demostrado que las infecciones del embrión y del feto pueden pasar inadvertidas en el nacimiento y detectarse al cabo de varios años como defectos de aprendizaje y son una de las causas de sordera, retraso al hablar, retraso mental y, probablemente, diabetes insípida por infección pancreática.

Según Manson y Logan, de 100 gestantes con rubeola en el primer trimestre del embarazo, el riesgo total es del 39,4 % (8,7 % en el grupo testigo), que se descompone en un 16,4 % en que el producto de la concepción no es viable (abortos, muertos al nacer y muertos a los 2 años), un 13 % de malformaciones graves y el 10 % de malformaciones leves (sordera). En general, la probabilidad de que un recién nacido presente malformaciones congénitas debidas a la rubeola es del 1 × 2.000.

Tabla 64-1. Alteraciones y malformaciones en la rubeola congénita

Generales
Bajo peso al nacimiento
Retraso en el crecimiento intrauterino y posnatal
Infecciones recurrentes
Oculares
Cataratas
Glaucoma
Retinopatía
Miopía
Sistema nervioso central
Defectos del lenguaje
Retraso mental
Microcefalia
Sordera
Sistema cardiovascular
Conducto arterioso persistente
Defectos del tabique interventricular
Estenosis de la arteria pulmonar
Sistema hematopoyético
Anemia
Leucopenia
Púrpura trombocitopénica
Hepatoesplenomegalia
Sistema óseo
Malformaciones de las metáfisis

Ictericia con púrpura trombocitopénica

En algunos casos (1 × 3.000 casos), el recién nacido puede presentar un cuadro caracterizado por anemia hemolítica, hepato y esplenomegalia, púrpura y neumonía intersticial con bajo peso al nacimiento, producida por una infección del feto por el virus (fetopatía).

Inmunidad. Como consecuencia de la enfermedad (rubeola posnatal) se producen anticuerpos neutralizantes (IgM, IgG), de los cuales las IgG persisten durante mucho tiempo y son responsables de la inmunidad, que es sólida y de larga duración, mientras que las IgM persisten de 4-8 semanas. En las reinfecciones se produce una reacción anamnésica, con aumento de los anticuerpos ligados a las IgG, y no aparecen IgM; en estos casos no se produce viremia y, en consecuencia, no existe peligro de transmisión al embrión.

En la rubeola congénita, aunque el feto ya es capaz de sintetizar anticuerpos poco antes del nacimiento, las IgG que se encuentran en el recién nacido son probablemente de origen materno, mientras que las IgM, al no atravesar la placenta, son siempre de origen fetal. Después del nacimiento, el recién nacido continúa sintetizando los dos tipos de anticuerpos; las IgM alcanzan el título máximo a los 3-5 meses, mientras que las IgG, que se inician a partir del nacimiento, alcanzan los títulos más elevados cerca del año de edad.

DIAGNOSTICO

Como la rubeola es una enfermedad muy benigna, que cursa con síntomas inespecíficos, el diagnóstico clínico es difícil de realizar fuera de época epidémica, pues se puede confundir con otros exantemas (enterovirus, procesos alérgicos); por otra parte, muchos exantemas rubeólicos son poco aparentes y, además, pueden presentarse casos sin exantema. De ahí que con cierta frecuencia se produzcan errores de diagnóstico y no se pueda asegurar con certeza el haber sufrido la enfermedad, si no se recurre a pruebas de laboratorio.

El aislamiento del virus no se efectúa como método de rutina. En casos especiales puede realizarse a partir de frotis faríngeos obtenidos durante los primeros días de la erupción o de productos diversos (orina, leucocitos, bazo, cristalino, líquido amniótico) en casos de rubeola congénita, que se transportan en frío y conservan en el laboratorio a −70 °C. Si se inoculan células de riñón de mono (*C. aethiops*), el desarrollo del virus no produce alteraciones citopáticas, pero puede demostrarse por fenómeno de interferencia, frente a la inoculación posterior de un segundo virus citopático (virus Echo 11); sin embargo, es mejor inocular diversas líneas celulares, Vero (riñón de mono), BHK 21 (riñón de hámster), RK 13 (riñón de conejo) o SIRC (córnea de conejo), donde la presencia del virus puede detectarse por hemadsorción y la producción de alteraciones citopáticas de

desarrollo lento en forma de focos aislados de destrucción celular. El virus se identifica por inmunofluorescencia.

Para el diagnóstico serológico, pueden emplearse diversas reacciones: inhibición de la hemaglutinación (IH), fijación del complemento (FC), hemaglutinación pasiva (HAP), aglutinación de partículas de látex (LA), inmunofluorescencia (IF y FIAX) e inmunoanálisis (ELISA y RIA) como más importantes.

La IH ha sido la más utilizada. Se practica con hematíes de pollo de 1 día o de paloma, procurando eliminar previamente del suero problema los inhibidores inespecíficos (betalipoproteínas) y las hemaglutininas antiespecie, para evitar los resultados positivos falsos. Los anticuerpos aparecen con la erupción, alcanzan el título máximo a los 10-15 días y luego descienden progresivamente, pudiendo persistir a títulos bajos durante muchos años (fig. 64-1).

Las demás reacciones no precisan el tratamiento previo del suero problema y en general ELISA es la más sensible. FIAX presenta una sensibilidad semejante a IH y la reacción FC es la menos sensible. Es de destacar que los anticuerpos FC aparecen más tarde (7 días), alcanzan un título menos elevado y descienden rápidamente, aunque en ocasiones pueden persistir a títulos bajos durante mucho tiempo, de ahí la utilidad de la FC y HAP cuando se obtienen muestras tardías. En estos casos también se puede recurrir a la determinación de las IgM específicas (IF, ELISA, RIA); debe tenerse en cuenta que por lo general no persisten más de 4-5 semanas después de la aparición de los síntomas y es necesario eliminar la posible presencia del factor reumatoide (IgM anti-IgG), causa de falsos positivos.

La conducta que hay que seguir en una mujer joven en época de fertilidad o en la embarazada es la siguiente:

1. *Demostración de un estado de inmunidad.* Se efectúa mediante la demostración de anticuerpos por IH en una muestra de suero. Los títulos iguales o superiores a 1/10 indican inmunidad como consecuencia de una infección anterior. En casos de duda se aconseja ensayar con ELISA.

a) En una mujer joven en época de fertilidad, si se detectan anticuerpos (iguales o superiores a 1/10) y no existen antecedentes de exposición en los 2 meses anteriores, es indicativo de inmunidad. Si no se demuestran anticuerpos, indican susceptibilidad y necesidad de proceder a la vacunación.

b) Durante la primera semana de embarazo se aconseja practicar una serología. Si es positiva (igual o superior a 1/10) y no existen antecedentes como en el caso anterior, la gestante es inmune y no existe riesgo alguno. Por el contrario, si la serología es negativa, la gestante es susceptible y debe procederse a la vacunación después del parto.

2. *Diagnóstico de rubéola posnatal en una embarazada que ha estado en contacto con un caso de rubeola durante el primer trimestre del embarazo.* Cuando durante el embarazo se produce una exposición a un caso de rubeola, se debe practicar una serología durante la primera semana. Si es positiva, indica inmunidad como consecuencia de una infección anterior, pero si es negativa, se debe repetir a las 3-4 semanas (no antes, ya que el período de incubación es de 14-21 días). En este caso, si la serología continúa siendo negativa, aún se puede repetir una tercera vez, lo que señala en caso de negatividad que no se ha producido la infección, pero si se detectan anticuerpos y se produce una seroconversión, es indicativo de infección, debiendo valorarse el riesgo que existe para la embarazada y la conducta que hay que seguir. Si la muestra es tardía (después de la primera semana) y se demuestra ya un título elevado de anticuerpos, se puede llegar al diagnóstico practicando una FC o HAP, que por aparecer los anticuerpos tardíamente, aún permiten detectar una seroconversión, o mejor determinando en la muestra las IgM específicas (IF, ELISA) que persisten durante 4 ó 5 semanas.

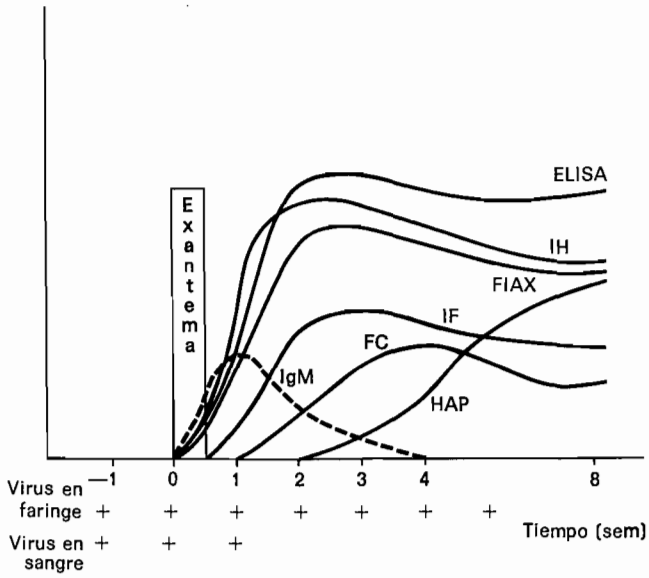


Fig. 64-1. Rubéola posnatal. Presencia del virus en la sangre y faringe, y evolución de los anticuerpos.

3. *Diagnóstico de rubeola congénita en un recién nacido cuya madre era sospechosa de haber padecido la enfermedad durante el embarazo.* Teniendo en cuenta la existencia de anticuerpos pasivos de origen materno (IgG), que desaparecen a los 6 meses (fig. 64-2), el diagnóstico se establece por la demostración de un título elevado de IgM antirrubeola poco después del nacimiento o por la persistencia o aumento del título de anticuerpos IgG durante los primeros 6 meses, mediante una reacción de IH en la madre y pruebas seriadas en el niño. La determinación de las IgM específicas puede efectuarse fraccionando el suero problema y practicando reacciones de IH con la fracción que deba con-

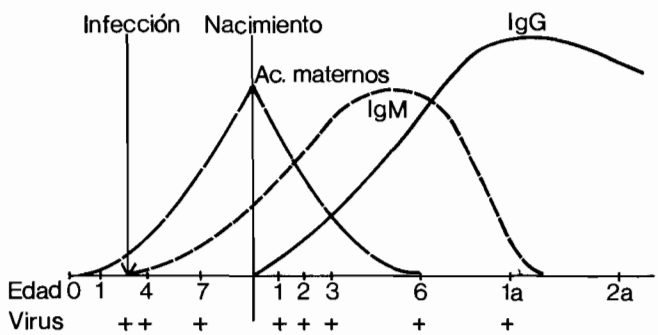


Fig. 64-2. Rubeola congénita. Eliminación del virus. Evolución de los anticuerpos pasivos de origen materno y de la respuesta inmune fetal (IgM e IgG).

tener las IgM, o empleando el suero no fraccionado y efectuando una reacción de inmunofluorescencia indirecta con un suero marcado anti-IgM, por ELISA, RIA o IF.

PROFILAXIS

Vacuna de la rubeola

Como la rubeola posnatal es una enfermedad muy benigna que no precisa profilaxis, la vacunación tiene por objeto la prevención de la rubeola congénita. Constituye un método indirecto de protección, pues la inmunización de niños o adolescentes evita la infección de la gestante y la acción del virus sobre el embrión y el feto.

Se han obtenido mutantes atenuadas del virus por pases en cultivos celulares de células de riñón de mono y de pato (cepa HPV77 DE5), células de riñón de conejo (cepa Cendehill) y células diploides humanas (cepa RA 27/3); se han preparado tres vacunas que han demostrado su eficacia. Sin embargo, la vacuna de elección es la preparada con la mutante RA 27/3, ya que produce mayores títulos de anticuerpos IH, NT y FC y la aparición de anticuerpos frente a los antígenos precipitantes, dando lugar a una inmunidad sólida y duradera muy semejante a la que queda después de la infección natural.

Es una vacuna liofilizada muy estable, que tiene un período de validez de 2 años a 4 °C y puede transportarse en condiciones normales, siempre que la temperatura no sea superior a 22 °C. Se administra en una sola dosis por vía subcutánea produciendo una proporción elevada de seroconversiones (95-100 %) y una inmunidad de larga duración. Para la vacunación se han seguido dos criterios:

1. Vacunación sistemática de la población infantil (niños y niñas) a los 12-15 meses de edad, para reducir al máximo la morbilidad durante el período escolar. De esta manera, se reducen las fuentes de infección más importantes y la transmisión a la gestante. Se acostumbra realizar con vacuna combinada del sarampión, rubeola y parotiditis (triple vírica), lo que facilita extraordinariamente los programas de vacunación en la infancia.

Como no existe la seguridad de que la duración de la inmunidad sea suficiente para cubrir todo el período de fertilidad, debe complementarse con la vacunación selectiva de las muchachas y mujeres adultas en edad de procrear, especialmente las de mayor riesgo (personal sanitario femenino, maestras) y también en el posparto para protegerlas durante el siguiente embarazo, lo que exige el compromiso de evitar la gestación en los próximos meses por su posible acción teratógena sobre el embrión.

2. Vacunación selectiva de las niñas a los 11-13 años de edad. En este caso, la vacunación no interfiere en la infección natural, que es muy benigna y produce una inmunidad más intensa y de mayor duración. Presenta la ventaja de concentrar la vacunación en las niñas durante el período prepuberal más cercano a la época de fertilidad; sin embargo, como la protección de la gestante no se producirá hasta varios años después, también se debe complementar con la vacunación selectiva de mujeres en edad de procrear y en el posparto. En estos casos se ha visto que no es necesario limitar la vacunación a las mujeres no inmunes o seronegativas (5-20 %) practicando pruebas de laboratorio (IH), sino que es más seguro, más fácil y menos costoso practicar una vacunación indiscriminada, que no representa riesgo alguno y, además, actúa como dosis de refuerzo.

La vacunación no produce por lo general reacciones en los niños, y sólo en una pequeña proporción de casos pueden presentarse artralgias en mujeres adultas. Deben tenerse en cuenta las contraindicaciones generales de todas las vacunas víricas atenuadas y en especial debe evitarse la vacunación de la gestante por su posible acción teratógena, que aún no se ha demostrado; sin embargo, está indicada la vacunación a los hijos de las gestantes, ya que al no ser transmisibles los virus atenuados no constituye riesgo alguno. En los casos de administración de inmunoglobulinas, la vacunación debe demorarse 3 meses como mínimo. La introducción de la vacuna en el calendario de vacunaciones sistemáticas de la infancia (vacuna triple vírica) ha ocasionado una gran disminución de la morbilidad y la posibilidad de llegar a la eliminación de la enfermedad.

Inmunización pasiva

La eficacia de la inmunoglobulina es muy discutida. Se ha observado que el título de anticuerpos en los preparados comerciales es muy variable y que las inmunoglobulinas hiperinmunes son difíciles de obtener. Se emplean en la protección de la gestante seronegativa expuesta a la infección. Sin embargo, no parece muy eficaz, pues se han observado algunos casos de rubeola congénita en mujeres tratadas, por lo que no se aconseja como medida de rutina.

BIBLIOGRAFIA

Krugman, S.: Present status of measles and rubella immunization in USA. J. Pediatr., 90, 1-12, 1977.

Krugman, S., y Katz, S. L.: Infectious diseases of children, 7.ª ed. C. V. Mosby, St. Louis, 1981.

Modlin, J. F.; Herrmann, K. L.; Brandling-Bennett, A. D.; Eddins, D. L., y Hayden, G. H.: Risks of congenital abnormality after inadvertent rubella vaccination of pregnant women. N. Engl. J. Med., 294, 972-77, 1976.

Parkman, P. D.; Hopps, H. E., y Meyer, H. M.: Rubella virus: isolation, characterization and laboratory diagnosis. Am. J. Dis. Child., 118, 68-77, 1969.

Capítulo 65

Rabdovirus: virus rábico

José Angel García-Rodríguez

La familia *Rhabdoviridae* está constituida por virus ARN, con forma de bala u obús y un tamaño que oscila de 60 a 400 nm de longitud por 60-90 nm de anchura. Tienen una envoltura con una serie de proyecciones glicoproteicas de 10 nm de longitud y en su interior se aloja un nucleocápside en forma de tubo enrollado en espiral, con un diámetro de hélix de 18 nm. El nucleocápside se presenta al microscopio electrónico como una estructura estriada. El ácido nucleico es ARN monocatenario, de peso molecular 3-5 × 10^6. Poseen, además, una transcriptasa del ARN.

El proceso de replicación no se conoce bien, pero parece ser que tiene lugar en el citoplasma de las células infectadas.

Esta familia comprende tres géneros:

1. *Vesiculovirus* (virus de la estomatitis vesicular del caballo).
2. *Lyssavirus*, que comprende el virus rábico y otros aislados de vertebrados (virus Duvenhage aislado de un caso de encefalitis; virus de Mokola aislado de un cuadro de encefalitis con parálisis y sin signos furiosos y de un enfermo con fiebre y convulsiones, y virus Lagos bat) e invertebrados (Kotonkan, Obodhiang).
3. *Sigmavirus* (virus de las plantas).

Como ejemplo más importante de rabdovirus estudiaremos por su acción patógena el virus rábico.

TAMAÑO, MORFOLOGIA Y COMPOSICION

Al microscopio electrónico, el virus de la rabia tiene forma de bala, de 180 nm de longitud y 80 nm de anchura. Los viriones tienen una densidad de flotación de 1,2 g/ml en cloruro de cesio. Existen formas más cortas (formas truncadas) que no son infecciosas.

El análisis de la composición química del virus rábico indica que contienen proteínas (74 %), lípidos (22 %), carbohidratos (3 %) y ARN (1 %). El nucleocápside, a su vez, está constituido en un 96 % por proteínas y en un 4 % por ARN.

Los componentes del virus son los siguientes:

1. *Envoltura:* Integrada por la glicoproteína (proteína G), 2 proteínas (proteínas M_1 y M_2) y lípidos (fosfolípidos). El componente hidrocarbonado de la glicoproteína está constituido fundamentalmente por la glucosa y el ácido siálico.
2. *Nucleocápside:* Tiene simetría helicoidal con ARN monocaterio y ARN-transcriptasa. El ácido nucleico está enrollado y a él se engarzan, a manera de pétalos, las unidades proteicas. La composición vírica se conoce bien gracias al tratamiento del virus con determinadas sustancias (fig. 65-1).

Mediante el tratamiento con detergentes no iónicos, como el NP40, se consigue desprender la glicoproteína. El tratamiento ulterior con desoxicolato (DOC) permite el aislamiento del nucleocápside. Si a continuación este nucleocápside se somete a la acción del 2-mercaptoetanol (2ME), puede conseguirse la separación del ácido nucleico y de la proteína del nucleocápside.

La proteína del nucleocápside (proteína N) tiene un peso molecular de 62.000 daltons. Es una fosfoproteína con los grupos fosfato concentrados en la zona terminal e induce la formación de anticuerpos fijadores del complemento. Estos anticuerpos carecen de propiedades neutralizantes y líticas, pero son válidos para la detección de los cuerpos de inclusión de Negri por inmunofluorescencia. En el nucleocápside existen también, aunque en pequeña cantidad, dos proteínas no estructurales: la proteína L (190.000 daltons) y la proteína NS (de pequeño peso molecular), que constituyen la transcriptasa del ARN.

La glicoproteína (proteína G) es la de mayor peso molecular (80.000 daltons) y, a diferencia de las otras proteínas, da lugar a la aparición de anticuerpos neutralizantes y fijadores del complemento. Se comporta como una hemaglutinina

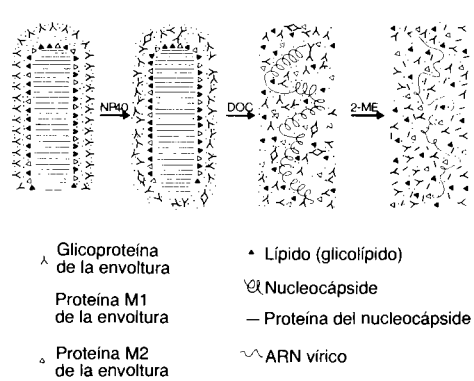


Fig. 65-1. Estructura del virus rábico.

y es responsable de la fijación del virus a las células. Las proteínas de la envoltura, M_1 y M_2, de peso molecular 40.000 y 25.000 daltons, respectivamente, no parecen estar dotadas de propiedades antigénicas. Existen, por tanto, 6 proteínas en el virus rábico: 3 en la membrana de envoltura (proteínas G, M_1 y M_2) y otras 3 en el nucleocápside (proteínas N, L y NS). Algunos autores hablan de dos tipos de proteínas G (G_1 y G_2) y admiten, además, la existencia de dos nuevas (P_{40} y P_{42}) aunque no están bien caracterizadas.

SENSIBILIDAD A LOS AGENTES FISICOS Y QUIMICOS

Es un virus frágil, que se inactiva por la luz ultravioleta, luz solar, ácidos y álcalis fuertes, detergentes catiónicos, solventes de los lípidos, tripsina y calor (1 hora a 50 °C). Se inactiva sin perder sus propiedades antigénicas por el formol, fenol y β-propiolactona, circunstancia que hay que tener en cuenta para la preparación de vacunas.

Se mantiene bien a 4 °C en glicerol al 50 % o desecado, y sobre todo liofilizado.

REPLICACION VIRICA

Parece similar a la de otros rabdovirus. El ARN monocatenario vírico es transcrito por la ARN-transcriptasa a 5 ó 6 tipos de ARNm, que codifican la síntesis de las distintas proteínas víricas.

El proceso de replicación tiene lugar en el citoplasma, donde van a formarse grandes masas de nucleocápsides (corpúsculos de Negri), que adquieren la envoltura en la membrana citoplásmica y se liberan de la célula por un

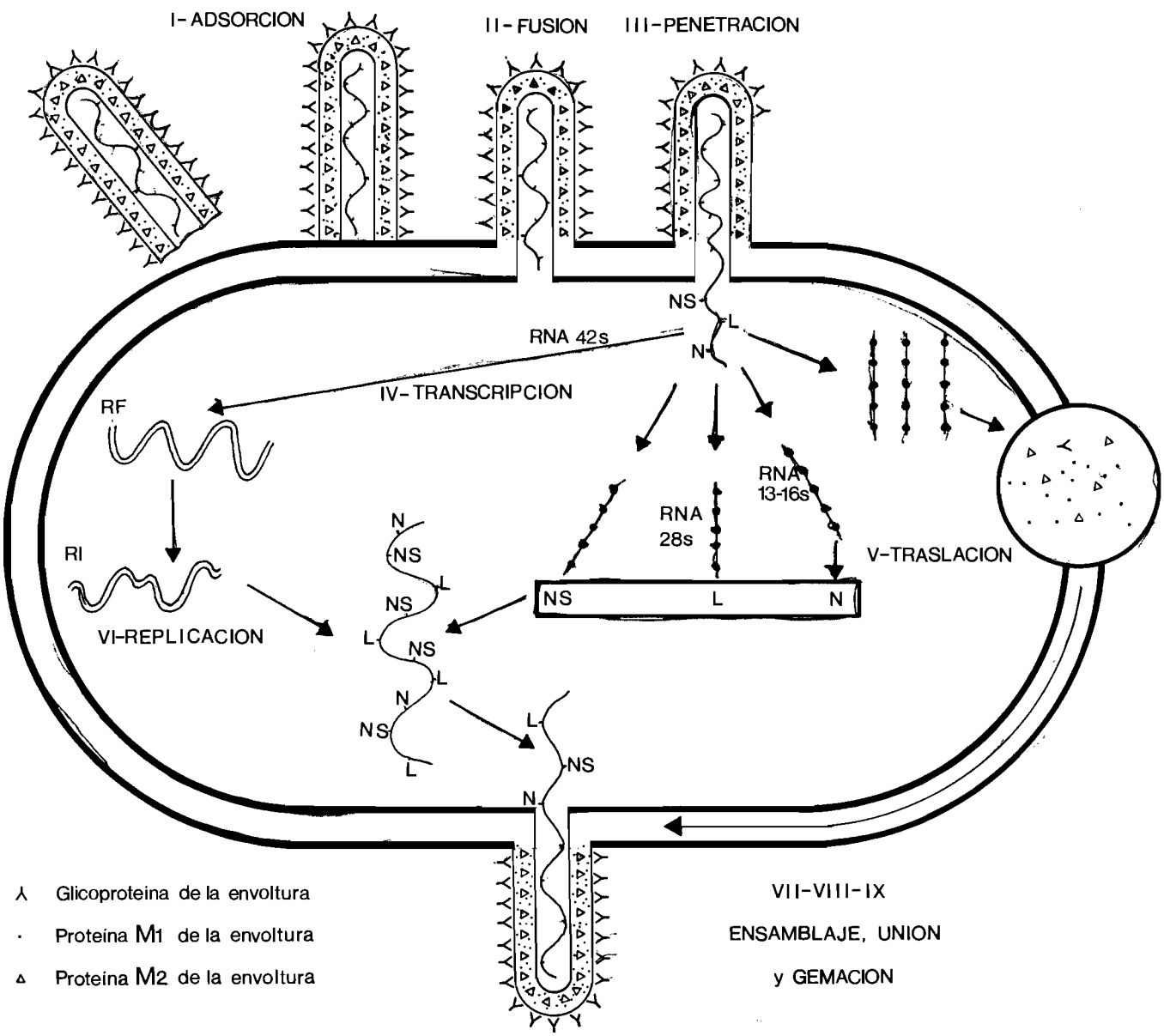


Fig. 65-2. Replicación del virus rábico.

proceso similar a la gemación. De forma esquemática, el proceso de replicación se realiza en las siguientes fases (fig. 65-2).

Adsorción

Es la unión del virus, por su extremo plano, con la célula huésped. No precisa energía y puede producirse a 4 °C.

Fusión

En esta fase, la membrana del virus se une a la celular y se necesita un aporte energético. Aunque algunos virus penetran por fagocitosis, esto sucede en muy pocas ocasiones.

Penetración

Como consecuencia de la fase anterior, el virus queda desprovisto de su membrana y penetra al interior sólo el nucleocápside.

Transcripción

Es el primer paso intracelular. Se forman a partir del ARN vírico los distintos ARN mensajeros por acción de la ARN-transcriptasa.

Traslación

Los ARN mensajeros codifican la síntesis de las distintas proteínas víricas. Las que van a formar parte de la membrana de envoltura se sintetizan en la membrana celular y las del nucleocápside, en el citoplasma.

Replicación

Se conocen pocos datos de esta fase. En este paso intervienen dos intermediarios que se conocen como «forma replicativa» (FR) y «replicativa intermedia» (RI).

Ensamblaje

Se produce la unión del ARN sintetizado en la célula con las proteínas del cápside. Se forma así un ribonucleocápside.

Unión del ribonucleocápside a la membrana celular

El ribonucleocápside emigra hasta la membrana celular y se une a ella.

Brote o gemación del nuevo virus

El virus emerge de la célula huésped a manera de dedo de guante, que se cierra en su parte final y constituye así el extremo plano del virus.

ESTRUCTURA ANTIGENICA

Todos los virus rábicos aislados del hombre y animales parecen pertenecer a un único inmunotipo. Los dos componentes antigénicos más importantes son:

1. La glicoproteína (proteína G) de la envoltura, responsable de la aparición de anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación y que se utiliza para la preparación de vacunas.
2. La proteína del nucleocápside (proteína N), inductora de anticuerpos fijadores del complemento y precipitantes.

Además de estos anticuerpos producidos por la glicoproteína y proteína del nucleocápside, existe una tercera clase que en presencia de complemento lisa células que han incorporado antígenos víricos a su membrana celular. Estos anticuerpos no parecen ser protectores y probablemente intervengan en la patogenia de la enfermedad.

Hasta fechas recientes se consideraba que todos los lissavirus tenían las mismas características antigénicas. Gracias a estudios con anticuerpos monoclonales se ha comprobado que la glicoproteína y la proteína del nucleocápside no son idénticas en todos. La glicoproteína y la proteína del nucleocápside presentan, por tanto, diferentes grupos antigénicos.

No obstante, gracias a trabajos con anticuerpos monoclonales se ha comprobado que algunos determinantes antigénicos del nucleocápside del virus rábico son comunes con los de otros *Lyssavirus*, tales como los virus Mokola, Lagos bat y Duvenhage.

Los anticuerpos monoclonales han sido, por tanto, de gran ayuda en el estudio antigénico del virus. En el futuro podrían reemplazar los sueros animales que se utilizan para el diagnóstico de la rabia en células infectadas y el suero e inmunoglobulina antirrábica empleados en la profilaxis, después de la exposición al virus.

PATOGENIA

El virus penetra en la piel por una herida (generalmente por mordeduras) y se replica en las células musculares y en el tejido conectivo próximos a la puerta de entrada. Como consecuencia de la replicación se produce una gran cantidad de nuevas partículas víricas, lo cual da lugar a un aumento ostensible de la dosis infectante. No obstante, la saliva puede contener partículas víricas en cantidad suficiente para producir la enfermedad. En la puerta de entrada, aunque el virus se replica con rapidez, puede quedar localizado días o meses.

A pesar de que en animales de experimentación se han conseguido infecciones por vía respiratoria, este mecanismo parece improbable en el hombre.

Desde la puerta de entrada, el virus progresa hacia la medula espinal por el axoplasma de los nervios periféricos, a razón de unos 3 mm por hora, y alcanza primero las neuronas de los ganglios dorsales y posteriormente la medula espinal.

A partir de este punto progresa por vía ascendente y afecta simultáneamente los ganglios dorsales hasta llegar al cerebro, donde se multiplica intensamente y produce una severa encefalitis.

La propagación por vía hemática hasta el SNC, aunque sospechada, no se ha podido demostrar. El virus no se ha aislado de la sangre.

A partir del cerebro, el virus sigue los troncos nerviosos, se distribuye por todo el cuerpo y alcanza fundamentalmente las glándulas salivales, medula suprarrenal, epitelio acinoso del páncreas y túbulos renales. En estos sitios se multiplica y origina infiltraciones, degeneración y necrosis celular.

No se sabe qué factores determinan el que la rabia se desarrolle en unos individuos y no en otros. Lo más probable es que intervengan los anticuerpos neutralizantes y quizás en alguna manera las células K y el interferón.

La rabia humana se produce casi siempre por mordedura de un perro rabioso. Aproximadamente, sólo la mitad de las mordeduras son rabígenas. El riesgo es mayor en determinado tipo de heridas; las más peligrosas son las de cara, cuello y tejido muscular o zonas no protegidas por la ropa. También influye la especie animal que la produjo; así, las heridas de gato y animales salvajes tienen peor pronóstico por la rapidez de instauración, ya que se trata de una afección en la que no existe prácticamente desviación entre morbilidad y mortalidad.

MANIFESTACIONES CLINICAS

Período de incubación

Como ya se ha señalado, durante el período de incubación, el virus sigue multiplicándose en la puerta de entrada. Después de días, meses o incluso años, el virus por neurotropismo centrípeto se propaga desde los nervios periféricos hasta el SNC. Aquí se encuentra en elevadas proporciones antes de aparecer los síntomas sistémicos.

Se han descrito períodos de incubación que varían desde 9 días a varios años. No obstante, la mayor parte de las veces oscilan de 18 a 60 días, pero son variables según la localización corporal donde se produjo la herida (20 a 40 días en las heridas de la cara y 50 a 80 en las de las extremidades). También influyen las características de la herida, así como la cantidad de virus inoculado.

Los stress agudos y los corticoides parecen acortar la duración del período de incubación. Se ha comprobado que los corticoides provocan un aumento de la mortalidad en los animales de experimentación y, como, además, originan una disminución de la respuesta inmunitaria a las vacunas, debe evitarse su utilización en personas que han sufrido una mordedura por un animal sospechoso.

No suele haber manifestaciones clínicas, salvo los síntomas originados por la propia herida o por el tratamiento postexposición, si éste se realizó. En ocasiones puede existir dolor o parestesia si el virus se propagó hasta el ganglio espinal.

Período de inicio

En este período, que dura de 2 a 8 días, aparecen una serie de síntomas, muy variables de unos pacientes a otros y que en todo caso no son muy específicos. Entre ellos están la cefalea, náuseas, vómitos, dolor abdominal, anorexia y, a veces, tos, diarrea y fiebre. En algunos casos existen lagrimeo, sudoración y aumento de la salivación.

Junto a estos síntomas existen otros más característicos, de importancia para establecer un diagnóstico precoz:

1. Tumefacción y dolor en el sitio de la mordedura.
2. Parestesia e hiperestesia cutánea, a lo largo del recorrido del tronco nervioso.
3. Cambio de conducta, que se traduce en un estado de melancolía y depresión (miedo, tristeza) o de agitación (insomnio, nerviosismo, ansiedad y sobre todo irritabilidad).

A partir de ahí, lo más frecuente es que el enfermo desarrolle una forma furiosa de rabia.

Período neurológico agudo

En éste aparecen los primeros signos objetivos de afectación del sistema nervioso. Los signos neurológicos iniciales son hiperactividad, desorientación, alucinaciones, modificaciones de conducta, rigidez de nuca, etc.

El paciente presenta períodos de agitación alternantes con fases de calma. Durante los episodios de agitación golpea, muerde y se vuelve agresivo. Este estado de hiperactividad suele ser desencadenado por múltiples estímulos (visuales, ruidos, etc.) y va precedido de un «aura». Son bastante característicos los espasmos faringolaríngeos provocados por el agua (hidrofobia) o al insuflar aire en la cara del paciente (aerofobia). En esta fase suele existir hiperventilación, hipersalivación y mioquimias musculares.

Rápidamente aparecen convulsiones locales y generalizadas y a los 3-5 días del comienzo de los síntomas aparecen la parálisis y coma. El enfermo suele morir por parálisis bulbar.

En un 10-20 % de los casos no existe período de hiperactividad y el enfermo desarrolla rápidamente un cuadro paralítico y coma. Esta forma paralítica se produce sobre todo en los casos de rabia transmitida por murciélagos.

COMPLICACIONES

Son múltiples y aparecen sobre todo en la fase de coma. Los enfermos presentan aumento de la presión intracraneal y disfunción hipotalámica, hecho que produce una disminución de la secreción de hormona antidiurética con diabetes insípida. Existe, además, una alteración del sistema nervioso autónomo con hipo o hipertensión, hipo o hipertermia y a veces trastornos del ritmo cardiaco.

La hipoventilación se presenta normalmente en la fase neurológica aguda. La hiperventilación y alcalosis respiratoria suelen aparecer en los pródromos o al comienzo de la fase neurológica. Las neumonías por aspiración, atelectasias y neumotórax son complicaciones graves que aceleran el cuadro. Otros procesos que normalmente aparecen son miocarditis, trombosis venosa, anemia, monocitosis, albuminuria e infecciones secundarias distintas de las broncopulmonares.

DIAGNOSTICO

Puede realizarse en el hombre o en el animal mordedor. La rabia es una enfermedad mortal la mayor parte de las

veces; por esta razón, es necesario realizar el diagnóstico durante el período de incubación, circunstancia sólo posible en el animal mordedor.

En el hombre

Por ello en el hombre tiene poco interés; no obstante, se puede establecer directamente por la demostración del virus a partir de la saliva, esputo, exudados traqueal y nasal, orina y LCR. En otras ocasiones se puede detectar antígenos víricos, por inmunofluorescencia, en células del epitelio corneal y piel de la herida (importante por poder realizarse durante el período de incubación). Finalmente, *post mortem*, el aislamiento, la investigación de antígenos y la búsqueda de corpúsculos de Negri pueden realizarse en tejido cerebral.

La detección de anticuerpos tiene poco interés en los casos de período de incubación corto. Si, por el contrario, éste es largo, pueden aparecer anticuerpos en sangre y en el LCR al iniciarse el cuadro clínico. Se detectan mediante reacciones de fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta y pruebas de neutralización. Recientemente se han empleado también las de inhibición de la fluorescencia y el test de reducción de placas. La inmunoprecipitación e inhibición de la hemaglutinación tienen menos valor. Estas pruebas serológicas se emplean más para estudiar la presencia de anticuerpos en el animal mordedor y caballos inmunizados y conocer el grado de protección que produce la vacunación humana y animal (perro, gato, etc.).

En el animal mordedor

Observación del animal durante 10 días

Dado que el período de incubación en el perro no es superior a 10 días, el mantener en observación al animal durante este tiempo permite conocer si el virus se encontraba en la saliva en el momento de la mordedura. Si el animal adquiere la rabia o muere, se lleva a cabo un estudio del sistema nervioso. Se puede recurrir, además, al aislamiento del virus mediante cultivos por inoculación experimental.

Estudio del sistema nervioso

1. Signos histopatológicos de presunción:

a) Hiperemia generalizada.
b) Signos de encefalitis focal.
c) Desmielinización de la sustancia blanca.
d) Infiltración de los ganglios nerviosos y astas posteriores de la medula por células capsuladas, con destrucción de las neuronas (lesión de Nellis) e hipertrofia de las neurofibrillas (lesión de Cajal).
e) Destrucción de células nerviosas de la corteza cerebral y cerebelosa, ganglios basales y bulbo raquídeo.

2. Signos de certeza. Presencia de corpúsculos de Negri en el tejido cerebral, particularmente en las células piramidales del asta de Ammon, células de Purkinje del cerebelo y astas posteriores de la medula. Mediante tinción con el método de Sellers aparecen elementos redondos u ovales de 2-10 µm de diámetro, localizados en el citoplasma. Son eosinófilos y presentan en su interior otros corpúsculos más pequeños (cuerpos de Volpino), que son basófilos. El hallazgo de estos cuerpos de inclusión de Negri tiene carácter definitivo. La no detección de estos corpúsculos no constituye un signo negativo, sobre todo en los casos de rabia transmitida por murciélagos.

Los corpúsculos de Negri pueden igualmente detectarse al microscopio electrónico y sobre todo por técnicas de inmunofluorescencia con un suero antirrábico obtenido en el hámster, método muy rápido y preciso.

Aislamiento de virus

El virus puede aislarse a partir de la saliva y, mejor, del tejido cerebral, inoculando al ratón lactante por vía intracerebral y al hámster por vía intramuscular. En el ratón, a los 6-15 días aparece una parálisis fláccida del tren posterior y muerte en 1 ó 2 días. Como el cuadro no es patognomónico de rabia, debe examinarse el encéfalo para buscar los corpúsculos de Negri. La inoculación al ratón es extraordinariamente útil cuando el estudio directo del sistema nervioso no ha puesto de manifiesto la existencia de corpúsculos de Negri.

Como medios de cultivo pueden emplearse cultivos de células primarias (riñón de hámster, células de embrión de pollo) y de células diploides y de línea continua. Recientemente se han desarrollado líneas celulares de hámster y de ratón, en las cuales el virus crece con extraordinaria rapidez y puede ser detectado a los 2 días por inmunofluorescencia.

TRATAMIENTO

Una vez aparecido el cuadro clínico, al no existir una quimioterapia válida, el tratamiento se basa en medidas generales de sostén y mantenimiento de las funciones respiratoria y cardiovascular y prevención de las complicaciones (hipoxia, arritmias, edema cerebral, etc.). No deben emplearse corticoides y menos aún si aparece el edema cerebral. El empleo de altas dosis de inmunoglobulina específica no ha dado resultados satisfactorios.

Existe una experiencia muy limitada con agentes antivíricos en animales de experimentación, de ahí que se haya sugerido el arabinósido de citosina como útil en caso de rabia. Sin embargo, no existen datos sobre su empleo en casos humanos. Se ha apuntado que el interferón podría ser válido en la profilaxis postexposición, y quizás en el tratamiento de casos clínicos, pero tampoco existe experiencia que permita confrontar la validez de esta hipótesis.

El pronóstico de la rabia es muy grave, pero existe alguna posibilidad de recuperación en las personas que han recibido profilaxis pre o postexposición con muy buena respuesta inmunológica.

EPIDEMIOLOGIA

La rabia es una zoonosis de distribución mundial, por la existencia de un reservorio múltiple y difícil de erradicar.

Reservorio

Aunque la susceptibilidad varía de unas especies a otras, todos los animales de sangre caliente pueden padecer la rabia, tanto de forma natural como experimental. Se distinguen dos tipos de reservorio: salvaje y doméstico.

Reservorio salvaje

Es el reservorio permanente de virus y distinto de unos continentes a otros.

1. En Europa: zorro y lobo.
2. En América; zorro, mofeta, murciélagos hematófagos (vampiros) e insectívoros.
3. En Africa: chacales.

Además de los anteriores también constituyen un posible reservorio los coyotes, linces, leopardos, ardillas, hurones, liebres y otros roedores salvajes.

En Europa Central y Occidental, el principal reservorio es el zorro rojo o común. A partir de la Segunda Guerra Mundial, este animal se desplazó en dirección Este-Oeste, a razón de un 30-40 km al año, y ha llegado ya hasta los Pirineos.

En América, además de las mofetas, constituyen un reservorio muy importante los murciélagos hematófagos (vampiros), los cuales a su vez infectan a otras especies insectívoras o frugívoras.

En los animales salvajes, el primer signo de rabia es la pérdida de temor al hombre y a otros animales, y resulta, además, bastante característico el hecho de que estos animales ataquen sin mediar provocación alguna.

Reservorio doméstico

Es la fuente directa de infección humana. El perro ocupa el primer lugar y el gato, el segundo, pero también otros animales domésticos, como óvidos, équidos, caprinos y roedores, pueden ser reservorio.

En el perro, la llamada forma furiosa tiene un período de incubación largo y puede ser de varios años, pero lo normal es que sea de 3 a 6 semanas y nunca inferior a 10 días. Los primeros signos reflejan un cambio de carácter (asustado, huidizo) y a los pocos días se vuelve agresivo, babea y tiende a morder los objetos en movimiento. Más tarde aparecen convulsiones y parálisis.

La forma denominada muda no suele mostrar un animal irritable y en raras ocasiones éste muerde, está adormilado y presenta tendencia a esconderse. En los gatos, la enfermedad cursa de forma similar.

Mecanismo de transmisión

El principal mecanismo es la vulneroinfección (mordedura, arañazo, etc.). Se han descrito algunos casos de rabia por mecanismos distintos, y experimentalmente se ha comprobado que puede transmitirse por la mucosa conjuntival y por vía respiratoria en forma de aerosol, con secreciones de murciélagos infectados. Parece ser que es también posible la vía oral.

Factores epidemiológicos

La localización de la lesión, la profundidad y multiplicidad de las heridas, la existencia o no de ropa en la zona y la cantidad de virus inoculado condicionan el período de incubación y la gravedad del cuadro.

PROFILAXIS

Conducta ante una lesión producida por un animal

Tratamiento local de la herida

En primer lugar, debe realizarse una limpieza de la herida y un lavado profuso, primero con agua y después con desinfectantes activos sobre el virus, tales como cloruro de benzalconio al 0,1 %, bromuro de centrimonio al 0,1 %, cloruro de bencetonio al 1 %, etanol al 70 % y tintura de tiomersal o yodo al 1/10.000. Este tratamiento precoz de la herida debe hacerse lo más rápidamente posible.

La inmunoglobulina específica es muy útil para los casos de probable período de incubación corto o heridas graves. En estos casos se aplicará por infiltración local acompañada de una inyección intramuscular a distancia. Si la herida no es muy sospechosa, puede administrarse localmente en forma de polvo. Es conveniente realizar también una profilaxis antitetánica y la administración de antibióticos, pero no es aconsejable suturar la herida.

Medidas que hay que tomar según el animal mordedor

Una guía útil que hay que seguir es la que se presenta en el algoritmo de la figura 65-3.

Vacunación antirrábica

Desde que Pasteur desarrolló la primera vacuna antirrábica, se han elaborado muchas más que culminaron con la obtenida en cultivo de células diploides humanas, que es la más utilizada actualmente. Desde un punto de vista histórico existen o han existido vacunas atenuadas (vacuna de Pasteur), inactivadas (Fermi y Semple), aviarizadas (en embrión de pollo, Flury; o en embrión de pato, VEP), obtenidas de tejido celular de animales inmaduros (V. de Fuenzalida) u obtenidas de cultivos celulares. En España se dispone de la vacuna obtenida sobre células diploides humanas y la elaborada a partir de cerebro del ratón lactante (V. de Fuenzalida).

La vacuna en células diploides humanas se obtiene cultivando el virus rábico en los cultivos celulares. En Estados Unidos se ha obtenido cultivándolo en células WI-38, posteriormente se fragmenta y se inactiva con tri-n-butil-fosfato. En Europa se cultiva en células MRC-5 y se inactiva sin fragmentar con β-propiolactona. Esta vacuna se liofiliza y se conserva a 4 °C. Se administra en cinco dosis, los días 1, 3, 7, 14 y 18, por vía intramuscular. Con esta vacuna se evitan las complicaciones neurológicas y las reacciones de hipersensibilidad al huevo.

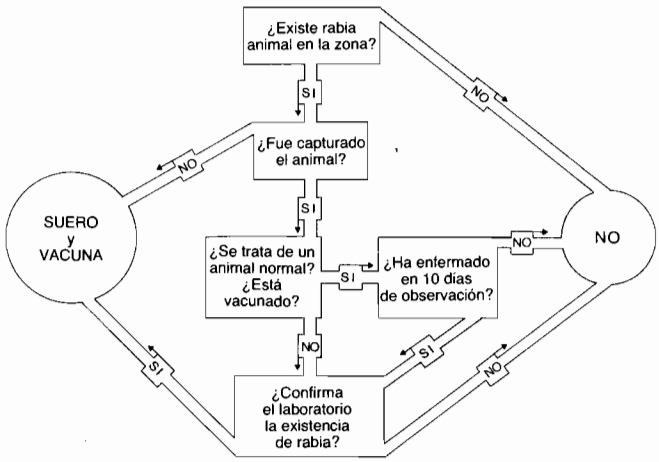


Fig. 65-3. Algoritmo de la profilaxis postexposición.

La vacuna de Fuenzalida se obtiene del cerebro del ratón lactante. El virus se inactiva con luz ultravioleta y fenol. Se emplea el ratón lactante en el que aún no se ha desarrollado la mielina. Sin embargo, puede ocasionar complicaciones neurológicas. Se administran siete dosis (una diaria) por vía subcutánea en la piel del abdomen.

Suero e inmunoglobulina antirrábica

El suero antirrábico, a dosis de 40 UI/kg, se ha demostrado eficaz para la profilaxis de la rabia en combinación con la vacuna. Ya se ha señalado que una parte (la mitad) puede infiltrarse localmente y la otra, por vía IM. Presenta los inconvenientes propios de la seroterapia en general; por esto, es preferible recurrir a la inmunoglobulina humana específica, a dosis de 20 UI/kg (la mitad localmente y la otra mitad por vía IM).

La utilidad del suero e inmunoglobulina se debe a que neutralizan el virus y prolongan el período de incubación, lo que proporciona un período de tiempo más largo para la formación de anticuerpos por la vacuna. En conclusión, la asociación de vacuna con la aplicación de inmunoglobulina es hoy día el pilar básico de la profilaxis antirrábica.

Medidas de profilaxis animal

Medidas en caso de rabia animal

Si el animal mordedor está vivo y ha sido capturado, será observado durante 10 a 14 días. Algo similar debe hacerse con todos los animales atacados por él, estén o no vacunados. Si en este período de tiempo el animal presenta rabia, será sacrificado, aunque esté vacunado.

En los casos de rabia en un rebaño bovino se procederá a sacrificar a todos los animales mordidos. Los restantes serán sometidos a observación durante 6 meses, prohibiendo su venta o consumo durante este tiempo.

Eliminación de los perros y gatos vagabundos y animales salvajes

Los primeros serán capturados y observados, y estarán 3 días a disposición de sus dueños y otros 3 para libre venta. Si nadie los reclama, pueden ser sacrificados. La eliminación de los animales salvajes es más problemática.

Vacunación de los animales domésticos

Se recomienda la vacunación de perros y gatos de zonas enzoóticas. En los perros, la vacunación es obligatoria. Las vacunas más empleadas son: Umeno, Fermi, Semple, Flury, tipo HEP (gatos), Flury LEP (perro), Fuenzalida, de cultivos celulares, etc.

Otras medidas

Son la declaración obligatoria y la educación sanitaria, tanto de los profesionales expuestos como de la población en general.

BIBLIOGRAFIA

Anderson, L. J.; Sikes, R. K.; Langkop, C. W.; Man, J. M.; Smith, J. S.; Winkler, W. G., y Deitch, M. W.: Post-exposure trial with 5 doses of a human diploid cell strain rabies vaccine. J. Infect. Dis., 142, 133-138, 1980.

Anderson, L. J.; Hattwick, M. A. W., y Gregg, M. B.: Rabies. En Sanford, J. P., y Luby, J. P. (dirs.): Infectious Diseases, 128-131. Grune and Stratton. New York, 1981.

Bernard, K. W., y Hattwick, M. A. W.: Rabies virus. En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed., 897-907. Wiley, New York, 1985.

Center for Disease Control: Immunization Practices. Adivisory Committee. Morb. Mortal. Weekly Rep., 29, 265-280, 1980.

Comité de Expertos de la OMS sobre la rabia, 7.º informe. Serie de Informes Técnicos 709, Ginebra, 1984.

Coslettg, D.; Holloway, B. P., y Obijeski, J. F.: The structurals proteins of rabies virus. An evidence for their syntesis from separate monocistronic RNA species. J. Gen. Virol., 49, 161-180, 1980.

Fraenkel, C., y Wagner, R.: Reproduction of *Rhabdovirus*. En Fraenkel-Conrat, H., y Wagner, R. R. (dirs.): Comprensive Virology, 4, 1-80. Plenum Press, New York, 1974.

Gardner, P. S., y McQuillin, J.: Rabies. En Rapid Virus Diagnosis. Application of Immunofluorescence, 174-184. Butterworth, London, 1980.

Jawetz, E.; Melnick, J., y Adelberg, E. A.: Rabia y otras enfermedades virales del sistema nervioso; virus lentos. En Manual de Microbiologia Médica, 422-433. El Manual Moderno, México, 1981.

Kaplan, M. M., y Koprowski, H.: La rabia. Investigación y Ciencia, 42, 94-104, 1980.

Kaplan, C.; Turner, G. S., y Warrell, D. A.: Rabies. The Facts, 2.ª ed. Oxford University Press, Oxford, 1986.

Matthews, R. E. F.: Classification and Nomenclature of Viruses, Karger, Basel, 1979.

Mitchell, Ch. D.: Rabies. Clin. Microbiol, Newsletter, 3, 127-130, 1981.

Murphy, F. A.: Rabies pathogenesis: Brief review. Arch. Virol., 54, 279-297, 1977.

Plotkin, S. A.: Rabies vaccination in the 1980s. Hosp. Pract., 15, 65-72, 1980.

Robinson, P. A.: Rabies virus. En Belshe, R. B. (dir.): Textbook of Human Virology, 485-511. PSG, Littleton, 1984.

World Health Organization: Rabies surveillance: Europe 1979. Weekly. Epidem. Rec., 55, 367, 1980.

Capítulo 66

Virus de las hepatitis

Gonzalo Piédrola-Angulo

Hepatitis vírica es todo cuadro inflamatorio hepatobiliar producido por agentes víricos. Las causas de hepatitis son múltiples: tóxicas, medicamentosas, bacterianas (*Coxiella, Leptospira*, etc.), parasitarias (*Toxoplasma*) y víricas.

Dentro de estas últimas, se dividen las hepatitis víricas en cinco grupos:

1. Hepatitis por virus A (HAV).
2. Hepatitis por virus B (HBV).
3. Hepatitis por virus delta (HDV).
4. Hepatitis por virus no A y no B.
5. Hepatitis por otros virus «no exóticos»: citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, herpesvirus, virus Coxsackie B, adenovirus y virus del sarampión y rubéola.
6. Hepatitis por virus «exóticos»: arenavirus (fiebre de Lassa), virus de Marburg, virus Ebola y agente de la fiebre del Valle del Rift o hepatitis enzoótica.

Las hepatitis de los cuatro primeros grupos poseen gran interés por su difusión, altas tasas de morbilidad, larga duración con tendencia a la cronicidad o complicaciones, así como el carácter marcadamente profesional (actividades sanitarias).

HEPATITIS A

Etiología

El virus de la hepatitis A, infecciosa o epidémica, puede demostrarse en las heces de los enfermos. Se trata de partículas de 28 nm, de simetría cúbica, con 32 capsómeros, sin envoltura y que poseen un genoma lineal de ARN monocatenario de 2,5 × 10 daltons; en él se han descrito cuatro polipéptidos estructurales mayores (VP1 a VP4), de peso molecular de 30.000, 24.000, 21.000 y 7.000, respectivamente. Por su resistencia al pH ácido, su densidad, coeficiente de sedimentación, peso molecular y composición de polipéptidos, se ha designado como enterovirus tipo 72, dentro de la familia *Picornaviridae* (tabla 66-1). Sólo se ha descrito un tipo antigénico. El virus puede cultivarse en células de riñón de tití, células de riñón de feto de *Macacus rhesus* (FRhK6), células humanas de hepatoma (PLC/PRF/5), fibroblastos embrionarios humanos y células diploides humanas de pulmón. El crecimiento puede demostrarse por inmunofluorescencia, ya que el virus no es citocida. Se ha inoculado en titís y chimpancés, y se demuestra su presencia en suero, heces y citoplasma de los hepatocitos.

En los individuos infectados pueden demostrarse anticuerpos específicos anti-HAV, que persisten durante largo tiempo.

Acción patógena

El virus A penetra por vía oral o parenteral, y demuestra su afinidad por el hígado. En un alto porcentaje de casos da lugar a una infección subclínica o una hepatitis anictérica y en el resto (alrededor del 10 %), a un cuadro de hepatitis aguda, de rápida evolución, buen pronóstico y muy raras complicaciones o tendencia a la cronicidad.

La hepatitis anictérica puede cursar sin síntoma alguno o con vagos síntomas de «empacho» o «afección gripal». Sólo la demostración de alteraciones enzimáticas (transaminasas) o el estudio de anticuerpos específicos permiten el diagnóstico. Estas formas confirman la difusión del virus, pues entre el 75 y el 100 % de la población adulta posee anticuerpos anti-HAV.

La hepatitis aguda por virus A tiene un período de incubación de 10 a 50 días (2-6 semanas) y un comienzo brusco.

Tabla 66-1. Caracteres diferenciales de los virus de las hepatitis

	Virus A	Virus B	Virus delta
Acido nucleico	ARN monocatenario	ADN parcialmente bicatenario	ARN
Envoltura	No	Sí	Si, HB_sAg
Antígenos	Unico	Múltiples	Unico
Tamaño (nm)	28	42	37
Lugar de replicación en el hepatocito	Citoplasma	Núcleo	Núcleo
Taxonomía	*Picornavirus*	*Hepadnavirus*	?

Tras un período preictérico con anorexia, astenia, dolores abdominales, fiebre de 37-38 °C, cefalea, artralgias, etc., aparece la ictericia con orinas colúricas y heces hipopigmentadas; persisten los síntomas gastrointestinales y aparece hepatomegalia, acompañada o no de esplenomegalia. El cuadro evoluciona favorablemente y son muy raras las complicaciones. No se ha descrito el estado de portador crónico en la hepatitis A. No requiere tratamiento.

Diagnóstico

Junto a los datos clínicos, el diagnóstico debe ser comprobado por los datos de laboratorio, que demuestren el daño o lesión hepática o bien la presencia del virus o la respuesta humoral a él.

Tests de lesión hepática. Aparece hiperbilirrubinemia, con aumento de las glutámico-transaminasas (principalmente ALT), lactodeshidrogenasa y fosfatasa alcalina. El grado de alteración de las proteínas plasmáticas (proteinograma) y la tasa de protrombina indican la gravedad de la lesión. Por último, la punción-biopsia permite observar las alteraciones histopatologicas.

Demostración del virus. Puede realizarse en las heces por observación al microscopio electrónico hasta 2-3 semanas después de la aparición de la ictericia o por inmunofluorescencia directa en cortes de parénquima hepático obtenidos por punción-biopsia, donde aparece en el citoplasma del hepatocito y de las células de Kupffer.

Búsqueda de anticuerpos. Es el método más idóneo, pero, como el porcentaje de seropositivos es muy alto en la población sana, el diagnóstico de infección se realiza por la demostración de altos títulos de IgM anti-HAV. Las técnicas más usadas son el radioinmunoensayo (RIA) y el ELISA con antígeno de titís infectados o heces humanas, y se recomiendan dos tomas de suero separadas por 15-20 días (fig. 66-1).

Epidemiología

Los virus eliminados por las heces de los enfermos (semanas o meses) y presentes en la sangre (2 semanas antes y 2 después de la ictericia) constituyen fuentes de infección claras, pero la presencia de formas anictéricas y asintomáticas explica la gran difusión del virus A. Al lado del bien conocido mecanismo de transmisión feco-hídrico (manos contaminadas, agua, leche, diversos alimentos e incluso utensilios de cocina, termómetros, etc.), puede ocurrir una transmisión parenteral, ya que se considera que el 30 % de todas las hepatitis por esta vía se producen por virus A. Algunos artrópodos se han demostrado también como vectores del virus; se ha conseguido experimentalmente la transmisión por vía aérea en voluntarios.

La hepatitis A afecta sobre todo a niños adolescentes de 5 a 15 años, y aparecen los brotes epidémicos (finales del verano y otoño) en guarderías, colegios, orfanatos, etc. Por acumulación de susceptibles se han descrito epidemias en el medio rural y en campamentos militares; los mayores brotes epidémicos se deben al origen hídrico o alimentario. En otras zonas, la hepatitis A es endémica, con brotes cada 5-10 años. Se han descrito casos humanos, cuyo origen estaría en primates (personal de zoológicos).

Inmunidad

La hepatitis A es una infección inaparente en la mayoría de la población, y se conservan títulos de anticuerpos protectores durante muchos años. En nuestro medio, estos títulos aparecen en casi el 100 % de las personas de edad superior a 35 años.

Profilaxis

La profilaxis podemos llevarla a cabo a dos niveles: en el mecanismo de transmisión o específica con γ-globulina.

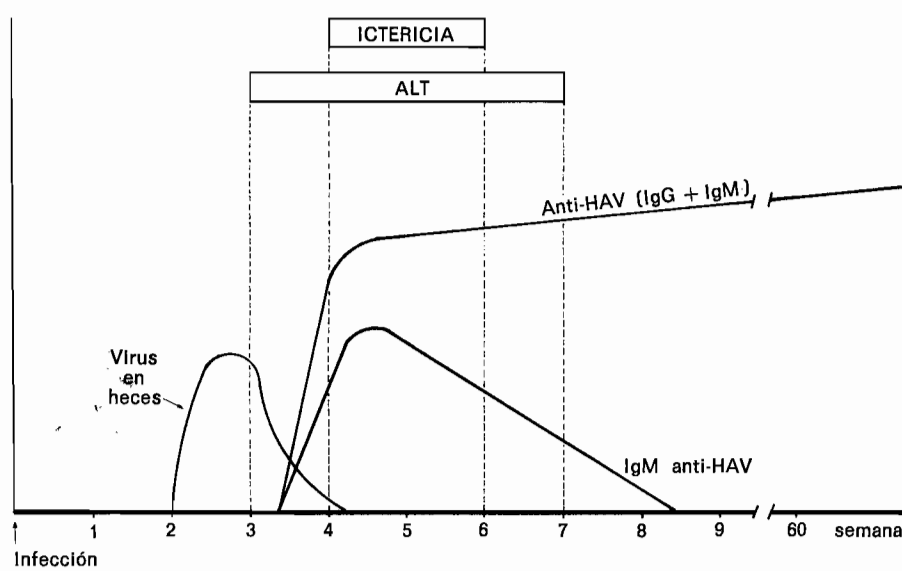


Fig. 66-1. Relación entre la clínica, la presencia del virus y los anticuerpos en la hepatitis por virus A.

En el mecanismo de transmisión se realiza mediante una correcta desinfección, higiene individual, cloración del agua (por esto es más frecuente en países de bajo desarrollo económico), higienización de la leche, mejora del saneamiento general, etc. Debemos recordar aquí que el virus es relativamente resistente a la inactivación por calor a 60 °C durante 1 hora, al éter y a los ácidos, pero que se destruye por formalina a una concentración de *1/4.000,* a 37 °C durante 72 horas, y por cloro (1 mg/l durante 30 min).

La profilaxis con γ-globulina debe administrarse, a ser posible, durante el período de incubación o como mucho hasta 6 días después del comienzo de la ictericia. Se dará en colectividades o familias en las que aparezca un caso, en los brotes que tengan el mismo origen (p. ej., hídrico) y en los visitantes de áreas endémicas. Se recomienda una sola dosis de 0,02 ml/kg, menos en el caso de los sujetos que tengan que permanecer más de 2 meses en áreas endémicas, en que se recomiendan 0,06 ml/kg cada 5 meses.

Se encuentra en experimentación una vacuna formolizada con la cepa CR 326 (Costa Rica), cultivada en células FRhK6.

HEPATITIS B

Etiología

El virus B es una partícula esférica, de 42 nm, conocida con el nombre de partícula Dane, pues este autor la describió por primera vez en 1970. Está formado por una doble envoltura, que rodea un core de 27 nm, el cual a su vez contiene un ADN, de doble cadena incompleta (figs. 66-2 y 66-3).

En el momento actual, el virus B se clasifica dentro del grupo de los *Hepadnavirus (Hepatic DNA viruses),* junto a los virus de las hepatitis de la marmota americana, la ardilla y el pato; entre ellos existen caracteres ultraestructurales, antigénicos y del ADN marcadamente afines, así como fenómenos biológicos comunes, tales como el hepatotropismo y dar lugar a infecciones persistentes con muy altas concentraciones de virus y partículas incompletas en la sangre de los infectados.

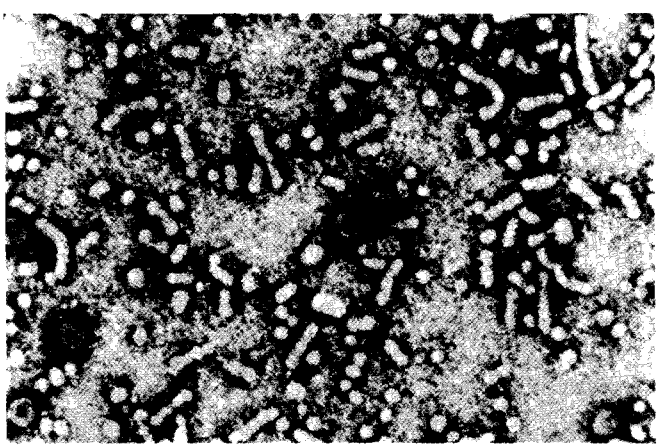


Fig. 66-2. Partículas víricas en el suero de un enfermo de hepatitis B. Hay partículas esféricas pequeñas, tubulares y partículas completas del virus Dane.

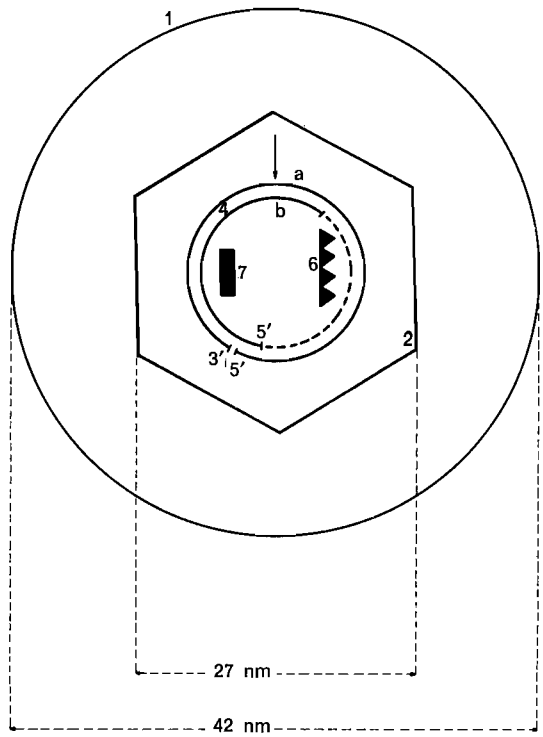


Fig. 66-3. Estructura del virus B de la hepatitis. 1) Envoltura. 2) Nucleocápside o core. 4) ADN con sus cadenas L (larga), que posee un *hiatus* donde se hallan las terminales 3′ y 5′, a una distancia de 1.824 pares de bases, a partir del lugar de actuación de la endonucleasa EcoRI, señalado con una flecha. La cadena S (corta) posee una zona de variable longitud en su final 3′, representada por una línea de puntos, y un final 5′ a 1.590 pares de bases de EcoRI. 6) ADN-polimerasa. 7) Proteinquinasa.

En la sangre de los individuos con hepatitis B aguda aparecen tres tipos de formaciones víricas (fig. 66-2).

1. Partículas esféricas de 22 (16-25) nm, que química y antigénicamente son idénticas a la estructura de la envoltura. Son las más numerosas.
2. Partículas tubulares o filamentosas, de 16 a 25 nm de diámetro y 200-400 nm de longitud, químicamente iguales a las anteriores, porque ambas representan material de la envoltura, que no ha ensamblado con estructuras del core; son formas víricas incompletas.
3. Partículas Dane, o sea, viriones completos, de 40-42 nm, con una envoltura lipídica externa de 7-8 nm y una nucleocápside interna, electrodensa, de 27 nm o core.

Cada uno de los componentes del virus presenta un interés antigénico marcado, y son estudiados por separado.

Envoltura o antígeno superficial de la hepatitis B (HB_sAg). Aparece en el citoplasma del hepatocito y pasa al suero en las tres formas descritas, esféricas de 22 nm, tubulares y en la superficie de la partícula Dane (fig. 66-2). Corresponde al antiguamente llamado antígeno Australia. Se presenta muy precozmente en el suero, señal evidente de la infección, y desaparece o no, según la evolución del cuadro. Es un componente proteico, con 9 polipéptidos, que contiene fosfolípidos (22-30 %) y carbohidratos (3-7 %). El peso molecular es de $3{,}5\text{-}4{,}5 \times 10^6$.

Hoy se ha identificado completamente la secuencia de 226 aminoácidos del polipéptido mayor, que posee todas las propiedades inmunógenas, siendo codificado por el gen S; existe en dos formas, glicosilada (GP27) y no glicosilada (P24). La proteína media posee 281 aminoácidos y es codificada por los genes S y pre-S2; tiene dos formas glicosiladas (GP33 y GP36). La proteína grande, codificada por las regiones pre-S1, pre-S2 y S, también presenta una forma glicosilada (GP42) y otra no glicosilada (P39). Un virión contiene 300-400 moléculas de proteína mayor y 40-80 de las proteínas mediana y grande.

Todos los virus poseen un determinante común, llamado *a*, y diversos subdeterminantes y variantes, de interés epidemiológico. Así, los determinantes *d*, y y los *w*, *r* son grupos alelos, con los que aparecen cuatro grandes grupos de HB_sAg: *adw*, *adr*, *ayr* y *ayw*. Posteriormente se han descrito los subdeterminantes del *a* (a_1, a_2 y a_3) del *d* (1*d*, 2*d*), del y (1y, 3y) y del w (w_1, w_2, w_3 y w_4), y los *g*, *q*, *t*, *n*, *j*, *k* y Af. El interés epidemiológico de estos estudios es doble; por una parte, existen subtipos geográficos (en Norteamérica y Europa predominan *adw* y *ayw*) y, por otra, el subtipo más frecuente hallado en la hepatitis aguda es el $a_2 1 d w_2$, mientras que en los sujetos hemodializados ha sido el $a_2 3 y w_3$. El subtipo posee también un gran valor para la elección de las vacunas y γ-globulinas adecuadas.

En la superficie del virión se ha comprobado la existencia de receptores para la albúmina, que desempeñarían un importante papel en el reconocimiento y entrada del virus en el hepatocito.

Cápside, core o antígeno del core del virus B (HB_cAg). Tiene 27 nm de diámetro, es de simetría cúbica y se desconoce el número exacto de capsómeros. Posee una proteína mayor, proteína del core (P22), con un final rico en restos de prolina, arginina y serina; implicados en la interacción con el genoma vírico. El HB_cAg aparece en el núcleo de los hepatocitos, se demuestra por técnicas de fluorescencia y se detecta en el suero por métodos muy sensibles.

ADN. El genoma del HBV, de peso molecular $1{,}6\text{-}2{,}1 \times 10^6$, tiene una estructura poco usual y muy característica de los *hepadnavirus*. Se trata de un ADN circular bicatenario, con una región de longitud variable en una de ellas (figs. 66-3 y 66-4). La cadena larga o L(–) es lineal, con una longitud fija de alrededor de 3.200 nucleótidos. La corta o S(+) es de longitud variable, entre el 50 y el 100 % de la cadena L(–). Las posiciones de los finales 5′ de las cadenas L(–) y S(+) están fijas, mientras que la posición del final 3′ de la S(+) es variable. Curiosamente, los finales 5′ de ambas cadenas poseen los mismos 11 últimos pares de bases, denominados DR1 y DR2 (*direct repeat*), y se encuentran en las posiciones 1.824 y 1.590, respectivamente, a partir del mapa con la endonucleasa EcoRI.

El ADN de este virus se integra en el núcleo de los hepatocitos de los sujetos infectados, si bien las formas libres son mucho más abundantes que las integradas (unas 500 veces más). En los sujetos con carcinoma hepático, esta integración también se ha demostrado, pero no de todo el ADN vírico, sino de fragmentos de éste, a diferencia de los sujetos con hepatitis.

El ácido nucleico codifica una polimerasa, que puede detectarse en el suero de los infectados, y también una proteinquinasa, que fosforiliza la proteína mayor del core.

Antígeno e (HB_eAg). Este antígeno no particulado se encuentra en el interior del nucleocápside, aunque sin ubicación exacta. Es una proteína termolábil, formada por cuatro polipéptidos de peso molecular de 3×10^5 daltons, que aparece sólo en los portadores de HB_sAg. Posee, como el HB_sAg, carácter heterogéneo y se han descrito tres variedades: HB_eAg1 (que aparece en el 77 % de portadores asintomáticos), HB_eAg2 y HB_eAg3, pero pueden hallarse $e_1 + e_2$, $e_1 + e_3$ y $e_1 + e_2 + e_3$.

El virus B no se ha podido cultivar *in vitro*, si bien la utilización de hepatocitos embrionarios humanos, de células de epitelioma hepatobiliar primitivo (EHP) y de la línea PLC/PRF/5 ó línea Alexander ha dado resultados muy prometedores.

Genética del HBV

En la cadena L(–) del ADN vírico se codifican cuatro marcos de lectura (ORF), denominados S, C, P y X (fig. 66-4). La región S, subdividida en S, pre-S1 y pre-S2 codifica las proteínas de la envoltura antes citadas; la región C codifica la proteína P22 del core; la región P, la ADN-polimerasa, y la región X, un polipéptido de 145-154 aminoácidos de función no bien conocida, pero frente al que se han encontrado anticuerpos séricos en pacientes de carcinoma hepático.

El mecanismo de replicación del HBV, como el de los otros *hepadnavirus* y diferente de otros virus ADN, se basa en el uso de una copia de ARN como intermediario de la replicación: después de la penetración del virus en la célula hepática, el ADN alcanza el núcleo y convierte en presencia de la polimerasa su cadena S(+) en completa, teniendo lugar entonces un superenrollamiento del ADN de doble cadena completa. Seguidamente, tiene lugar una transcripción por una ARN-polimerasa, a ARN mensajero. Se ha comprobado en chimpancés infectados experimentalmente que dos ARNm aparecen en el proceso, ambos transcritos por la cadena L(–) y denominados como 2,1 kb y 3,5 kb (kilobases), que se codifican como muestra la figura 66-4. El ARNm 3,5 kb, llamado pregenoma y formado en gran cantidad, es encapsulado con la ADN-polimerasa y las otras proteínas. Mediante una transcripción inversa comienza entonces la síntesis de ADN por el lugar DR1. Un pequeño fragmento de ARN de 20 bp, derivado del final 5′, comienza ahora la síntesis del ADN de la otra cadena por DR2. La síntesis completa de esta cadena no es necesaria para la formación del virión completo y su eliminación al exterior por la célula hepática.

Este mecanismo de los *hepadnavirus* es similar al de los retrovirus. En éstos, el virión contiene ARN y la fase intermediaria de replicación es por un ADN sintetizado por la transcriptasa inversa. El virión de las hepatitis es ADN, y la replicación pasa por una fase intermediaria de ARN.

Inmunología

La respuesta a los antígenos citados es de gran significación en el diagnóstico, pronóstico y epidemiología de la hepatitis B, y por ello la estudiaremos desde la doble vertiente, humoral y celular.

Los cuatro antígenos fundamentales, HB_sAg, HB_cAg, HB_eAg y ADN-polimerasa, dan lugar a diferentes tipos de

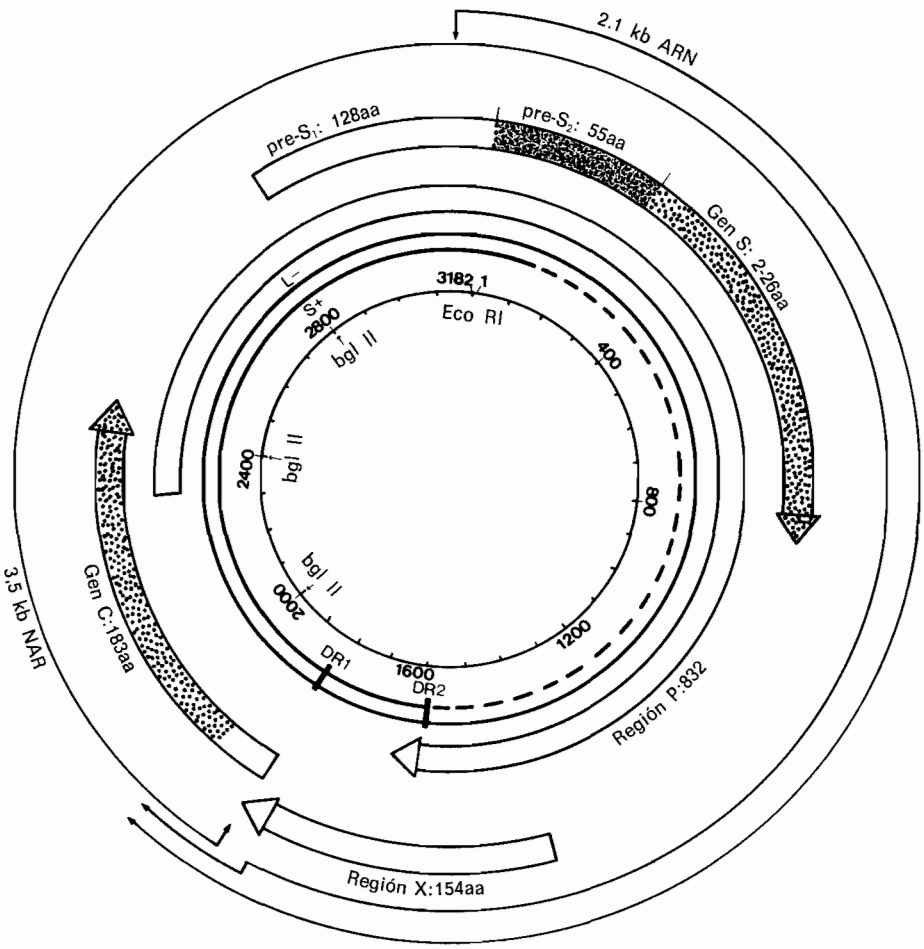


Fig. 66-4. Estructura y organización genética del genoma del virus HBV. Las flechas anchas que rodean el genoma representan las cuatro secuencias de lectura correcta, que transcribe la cadena larga (L-). Se indica el número de aminoácidos codificados por cada una. Las dos flechas más exteriores representan los dos ARNm mayores del VHB. El círculo más interior es el mapa del genoma *ayw*, en el que se indica el número de nucleótidos y el lugar de acción de las diversas nucleasas. DR1 y DR2 se encuentran en la posición 1.824 y 1.590, respectivamente.

anticuerpos séricos, y aparecen así cuatro «sistemas» antigénicos con diferente significado:

Sistema HB_sAg-HB_sAc. La presencia en el suero de HB_sAg es un índice de contaminación por el virus B; puede también detectarse en el citoplasma del hepatocito, donde por inmunofluorescencia aparecen unas medias lunas características. La aparición de HB_sAc en el suero indica infección por el virus (reciente o antigua), pero sobre todo tiene el valor de que estos anticuerpos son protectores e indican inmunidad natural o frente a las vacunas.

Sistema HB_cAg-HB_cAc. El antígeno del core es detectable en el núcleo del hepatocito, y se ha comprobado que, a medida que se detecta en mayor cantidad de núcleos por inmunofluorescencia, el pronóstico es peor. Los HB_cAc significan contaminación por el virus y durante los primeros 6-8 meses son del tipo IgM, por lo que indican que el proceso es reciente. Posteriormente, sólo se detectarían HB_cAc-IgG, que persisten durante un período de la vida muy dilatado.

La presencia de HB_cAc junto a HB_sAg se da en los sujetos con hepatitis aguda o crónica y en portadores asintomáticos; si aparecen con HB_sAc, son índice de infección anterior con inmunidad permanente. El HB_cAc-IgM indica una infección reciente (se ha señalado que podría ser usado como único marcador serológico de hepatitis aguda B) o de replicación activa del virus en los casos de hepatitis crónica. La detección de este anticuerpo es especialmente útil en los pacientes con hepatopatía activa y HB_cAg negativo. El HB_cAg en suero sería un índice de replicación vírica.

Sistema HB_eAg-HB_eAc. El HB_eAg está asociado a la presencia en suero de partículas Dane y actividad ADN-polimerasa (sobre todo cuando están presentes el e_1 y el e_3), a la presencia de HB_cAg en el núcleo de los hepatocitos y a la aparición de antígenos de membrana; lo contrario sucede en los sujetos con HB_eAc. Por ello, se considera al HB_eAg como un índice de replicación vírica activa y un signo de infectividad tanto horizontal como vertical. Estaría siempre al comienzo de la infección aguda por HBV, su persistencia indicaría mayor riesgo de evolución a hepatitis crónica activa o cirrosis, y la seroconversión a HB_eAc señalaría, aunque no siempre, la resolución de la enfermedad y la no contagiosidad.

ADN-polimerasa y su anticuerpo. La presencia de ADN-polimerasa y su anticuerpo tiene el mismo valor que el sistema del antígeno e y no suele determinarse por esto.

El **ADN** del virus de la hepatitis B se puede detectar en el hepatocito o libre en la sangre, mediante técnicas de hibridación con ADN clonado y previamente marcado con P^{32}. Así se ha detectado en hepatocarcinomas y en portadores crónicos de HB_sAg. En estos últimos ha permitido distinguir dos patrones de infección persistente: una fase replicativa, con ADN libre en el tejido hepático, HB_eAg y ADN en el suero, y otra fase no replicativa, con ADN integrado en el

núcleo de la célula hepática y ausencia de HB_eAg y de ADN libre sérico. La correlación entre presencia de antigenemia e y ADN libre en suero es buena, pero sujetos con HB_eAc presentan en un 0-50 % de los casos ADN sérico libre.

Por otro lado, la presencia del virus B despierta una respuesta de base celular. Se han descrito dos factores:

1. El SIF o factor sérico inmunosupresivo, capaz de suprimir la acción mutágena de linfocitos normales. Es una α-globulina y aparece en procesos infecciosos, inflamatorios y tumorales. Sería, pues, inespecífico.
2. El RIF o factor inhibidor de rosetas, que es una lipoproteína de baja densidad y aparece en los procesos de hepatitis con tendencia a la cronicidad.

Asimismo se ha demostrado que el virus B determina la aparición de unos nuevos antígenos de membrana en las células hepáticas:

1. Un antígeno LSP o proteína específica del hígado, que estaría involucrado en la patogenia de la hepatitis aguda y crónica.
2. Un antígeno LM, de la membrana celular del hepatocito, involucrado en la hepatitis autoinmune.

Mediante estudios inmunohistológicos se ha demostrado la capacidad de fijación de IgG a estos antígenos de membrana, de una forma granular en la hepatitis crónica agresiva y de una forma lineal en la autoinmune; esta fijación nunca se ha visto en las hepatitis agudas. Se sugiere, por tanto, que la capacidad de fijación de inmunoglobulinas estaría correlacionada con la replicación y desempeñaría un importante papel en los procesos de hepatitis no agudos.

Asimismo, la presencia de HB_sAg y HB_eAg en la membrana del hepatocito estaría relacionada con los procesos de hipersensibilidad celular que se desarrollan en las hepatitis crónicas activas.

Acción patógena

El virus B, que penetra por diferentes vías, demuestra rápidamente su hepatotropismo; la afectación es muy variable, con mayor o menor necrosis celular centrolobulillar y destrucción o no del retículo parenquimatoso según los cuadros clínicos. Estos son múltiples, y se sintetizan en la figura 66-5.

Infección anictérica

Representa un alto porcentaje de las infecciones, lo que explica la presencia de HB_sAc en la población adulta sana. Nosotros hemos comprobado, en más de 2.500 sueros estudiados, que el 45 % poseen HB_cAc, señal inequívoca de infección. La sintomatología gástrica o pseudogripal no sugeriría la infección, pero los niveles de transaminasas y el viraje inmunológico la demuestran. Infección asintomática no significa en todos los casos bondad del proceso, pues en algunas personas la infección pasaría a crónica, llevándoles a portadores, a hepatitis crónica o bien a cirrosis.

Hepatitis aguda

Tras un período de incubación de 40 a 180 días o más (hepatitis de largo período de incubación), se desarrollan los síntomas de una forma insidiosa. El cuadro es en todo similar al descrito en la hepatitis A, pero con síntomas más marcados y manifestaciones extrahepáticas (gastrointestinales,

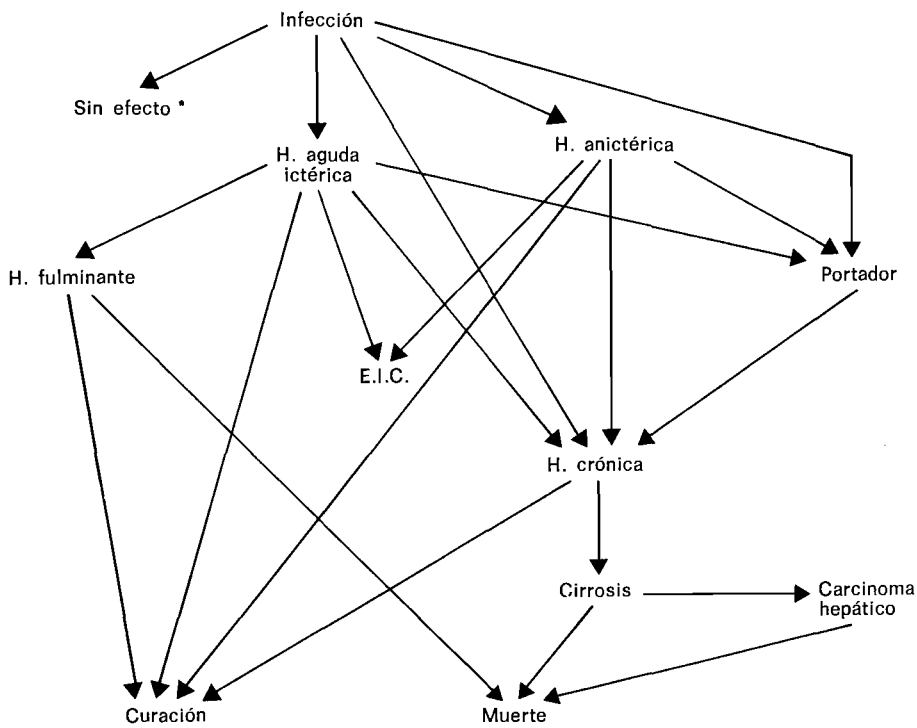


Fig. 66-5. Posibles evoluciones de la infección por el virus de la hepatitis B. H.: hepatitis. E.I.C.: enfermedades por inmunocomplejos. * Sujetos inmunes previamente.

renales, respiratorias, etc.). La ictericia y la fiebre son patentes.

La evolución del proceso suele ser hacia la curación total, pero en un porcentaje de casos variable se realiza a la cronicidad con posterior curación (sea de forma continua o en brotes), al estado de portador o a una hepatitis crónica.

Hepatitis fulminante

En un 1 ‰ de los casos de hepatitis aguda se desencadena este cuadro, casi siempre mortal, de necrosis aguda y masiva del hígado. La ictericia es muy marcada y el sujeto fallece rápidamente en coma hepático.

Portador crónico

Se entiende por tal aquel sujeto que, sin síntoma alguno, presenta una antigenemia HB_s durante más de 6 meses. Aparece en un 5-10 % tras la infección primaria, y en porcentaje mucho más alto si se trata de neonatos. Su hallazgo es casual, por búsqueda en personal sanitario, en donantes sanguíneos, etc. De ellos, la mitad poseen una biopsia normal, pero un 40 % presentan signos de hepatitis crónica y un 5 % los muestran de cirrosis activa. Su frecuencia es muy variable en las colectividades y está en relación con el desarrollo socioeconómico (de 0,1 % en países muy poco desarrollados a 20 % en los de mayor nivel), la profesión (muy superior en el personal sanitario que en el resto de la población), etc. Se ha calculado que existen más de 200 millones de portadores en el mundo.

Hepatitis crónica

Un 5-10 % de los adultos con hepatitis B aguda pasan a una hepatitis crónica. Los conceptos en este cuadro de persistente o agresiva son fases anatomopatológicas, que pueden aparecer en un mismo sujeto, moduladas por la respuesta inmune; en la primera, la infiltración linfoplasmática respeta el parénquima y su red de reticulina, mientras que la hepatitis crónica agresiva o activa indica necrosis e infiltración del parénquima periportal.

Enfermedades por inmunocomplejos

Mediante técnicas de inmunofluorescencia se ha podido demostrar la presencia de HB_sAg, complemento e inmunoglobulinas G anti-HB_s en los capilares glomerulares del riñón, arteriolas, piel, cerebro, sinovia y pleura. Estos inmunocomplejos serían, pues, responsables de cuadros de glomerulonefritis crónica, artritis, vasculitis, encefalitis, poliarteritis nudosa, pleuritis y, específicamente, acrodermia papular de los niños (síndrome de Gianotti-Crosti). Estos hechos demuestran que el poder patógeno del virus B va más allá del simple concepto de hepatitis.

Cirrosis y carcinoma hepático

El papel que el virus B desempeña en los procesos proliferativos y neoformativos del hígado ha sido objeto de intensos estudios en los últimos años. La presencia de cirrosis en portadores crónicos y la evolución a la fibrosis del proceso agresivo son patentes; los estudios en hepatomas han demostrado, sin lugar a duda, su presencia en un alto porcentaje de sujetos con persistente antigenemia HB_s (con una incidencia 200 veces superior a los controles HB_sAg negativos) y altos títulos de HB_cAc (80 % de los individuos) (v. cap. 68).

Diagnóstico

Al igual que en la hepatitis A, el diagnóstico se realiza por los tests de lesión hepática (que allí citamos), a los que aquí se añade el estudio de los sistemas antigénicos, que poseen valor diagnóstico y pronóstico. A excepción de la determinación del HB_sAg, para el que existen múltiples técnicas (hemaglutinación pasiva, gel-precipitación, CIE, ELISA y RIA, estas últimas son las más sensibles, pues detectan hasta un nanogramo), para la determinación del resto de antígenos y anticuerpos, la técnica más usada es ELISA, que es capaz de detectar hasta 0,1 ng/ml. Como norma se recomienda, ante los casos de sospecha, realizar tres marcadores (HAV-Ac-IgM, HB_sAg y HB_cAc) y, en caso de positividad de los dos últimos, realizar el resto del perfil inmunológico. En la tabla 66-2 se recoge la interpretación de los datos en diferentes perfiles inmunológicos. En todos los casos deben descartarse las infecciones por otros virus, bacterias o protozoos. La punción-biopsia y el estudio del HB_sAg y HB_cAg en el hepatocito, por inmunofluorescencia, tienen gran interés.

Los sistemas antigénicos en los distintos cuadros clínicos evolucionan así a lo largo del tiempo:

Hepatitis aguda

El primer marcador que aparece es el HB_sAg, casi simultáneo con la ictericia y el aumento de las transaminasas. Su presencia en sangre es fugaz (1 a 4 meses) y, tras un paréntesis de «silencio» o «ventana» del sistema (10-12 semanas), aparecen los HB_sAc protectores, índice de buena evolución. Los HB_cAc son precoces, muestran títulos altos, son del tipo IgM en principio y luego IgG, y persisten meses y años; son el único marcador de la fase de «ventana». El HB_eAg es muy difícil de detectar por su precocidad, pero los HB_eAc aparecen rápidamente, de ahí la buena evolución (fig. 66-6).

Hepatitis fulminante

En ella, el HB_sAg desaparece rápidamente, y se halla una respuesta de HB_sAc anormalmente precoz y muy intensa. Existiría un gran número de núcleos afectados con HB_cAg en el hígado y, en resumen, sería una hiperreacción inmunológica, con destrucción masiva del parénquima por linfocitos T sensibilizados.

Portadores crónicos

En ellos, existe una persistencia de HB_sAg y HB_cAc. La presencia junto a ellos de HB_eAg, HB_sAc-IgM y ADN libre en suero sería índice de una forma replicativa en un porta-

Tabla 66-2. Interpretación de los patrones serológicos más frecuentes en las hepatitis víricas A y B

IgM-anti-HAV	HB_sAg	HB_sAc	Anti-HB_c	IgM-anti-HB_c	HB_eAg	HB_eAc	Interpretación
+	−	−	−	−			Hepatitis A aguda
+	−	+	+	−			Hepatitis A aguda en un paciente inmune al HBV
+	+	−	+	−			Hepatitis A aguda en un portador de HBV
−	+	−	−	−			Hepatitis B aguda en fase muy temprana
−	+	−	+	+			Hepatitis B aguda en fase de comienzo
−	−	−	+	+	±	±	Hepatitis B aguda reciente, en fase de «ventana»
−	+	−	+	+	+	−	Hepatitis B aguda que con gran posibilidad evoluciona a cronicidad*
							Hepatitis B crónica en fase replicación*
−	+	−	+	−	−	−	Hepatitis B crónica. Portador*
−	+	−	+	−	+	−	Hepatitis B crónica con evolución a crónica persistente. ¿Alta infectividad?*
−	+	−	+	−	−	+	Hepatitis B crónica si las ALT están aumentadas. Portador asintomático, si las ALT son normales.
−	−	+	+	−		±	Hepatitis B en fase de convalecencia
							Infección anterior de un HBV con inmunidad
−	−	+	−	−			Sujeto vacunado o tratado recientemente con inmunoglobulina específica
−	−	−	+	−			Infección quizá muy antigua por HBV, con niveles de HB_sAc no detectables.
−	−	−	−	−			En un sujeto con hepatitis, infección por otros virus, bacterias, protozoos o tóxicos

ALT = alanina-aminotransferasa.
*El tipo de hepatitis crónica y su evolución depende de los niveles de ALT y la biopsia hepática. La detección de ADN vírico libre en plasma indicaria replicación vírica junto a la positividad de HB_cAg y HB_cAc-IgM.

dor asintomático, con posible evolución a hepatitis crónica activa o cirrosis. El viraje, con la aparición de HB_eAc y desaparición de HB_cAc-IgM, y el ADN no libre, sino integrado en el núcleo del hepatocito, podría indicar una buena evolución, si bien la biopsia hepática parece decisoria en el pronóstico de la enfermedad.

El estudio evolutivo de los sistemas antigénicos comprobará la evolución tomada.

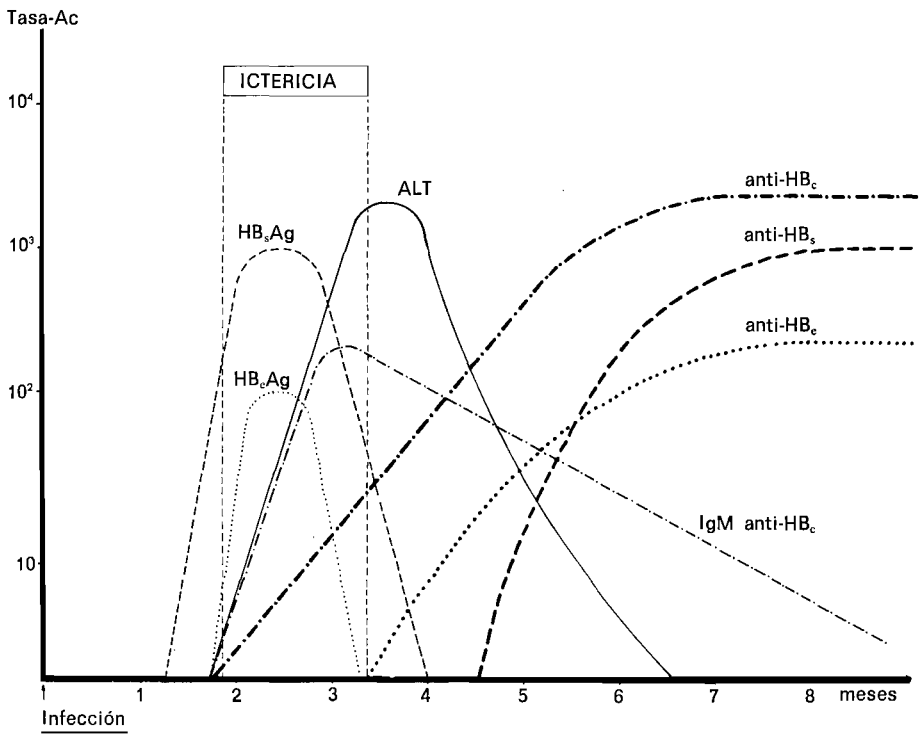


Fig. 66-6. Evolución de los marcadores serológicos del virus B, en la hepatitis aguda.

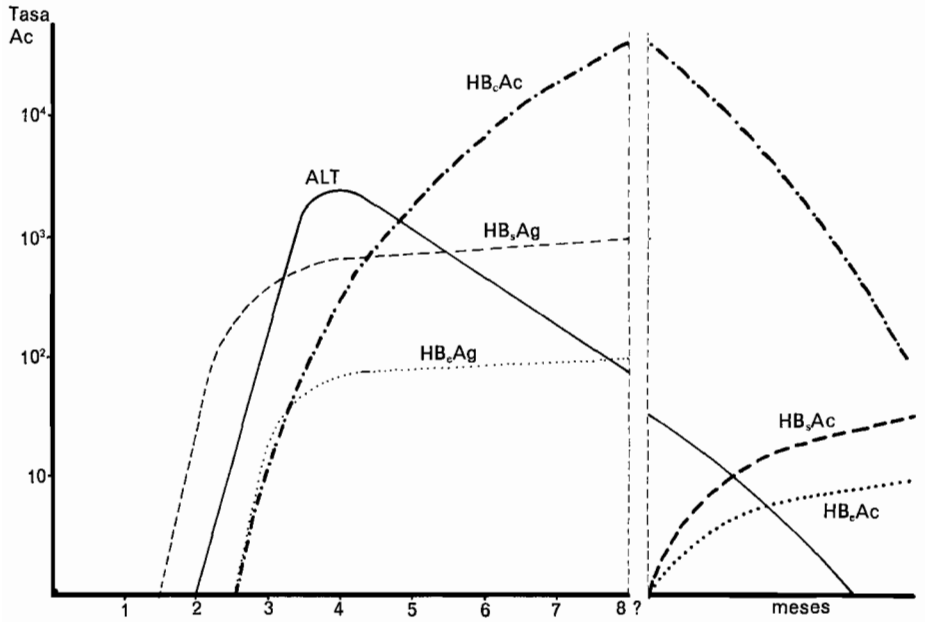


Fig. 66-7. Hepatitis crónica de evolución favorable.

Hepatitis crónica

En estos sujetos, además de la persistencia de las pruebas bioquímicas de lesión hepática (transaminasas, etc.) y de la presencia de alteraciones histopatológicas, encontramos una antigenemia HB_s que persiste meses. Esto explicaría dos posibles evoluciones:

Hepatitis crónica de evolución favorable (fig. 66-7). En un momento determinado, desaparecen los HB_sAg y HB_eAg y aparecen los anticuerpos protectores (HB_sAc) y de buen pronóstico (HB_eAc).

Hepatitis crónica de evolución desfavorable. En ésta persisten HB_sAg, HB_eAg y HB_cAc, a títulos muy altos y del tipo IgM y LSP-Ac (fig. 66-8). Además de estos parámetros séricos de cronicidad, sería positivo el factor inhibidor de rosetas (RIF) y las inmunoglobulinas G se fijarían sobre receptores de membrana del hepatocito (LSP, LM, e). El estudio biópsico confirmará el estado de las lesiones.

Otros marcadores de replicación vírica, de compleja técnica de determinación, serían HB_cAg y ADN vírico en suero y el HB_eAg asociado a la partícula Dane.

Por otro lado, se ha comprobado que esta tendencia a la cronicidad, que no sería más que un defecto del sistema inmune en eliminar las partículas víricas, se observa con más frecuencia en las personas de antígenos de histocompatibilidad HLA-B8 (que va unido a un defecto de las células T supresoras) y HLA-Drw3.

En resumen, se considera que el desarrollo de una hepatitis crónica agresiva se debería a una enfermedad autoinmune, en sujetos genéticamente expuestos, en los que existiría una persistencia del virus B y una anormalidad de la respuesta humoral (con anticuerpos frente a los antígenos de membrana) y celular (con células T de efecto citotóxico sobre los hepatocitos con HB_sAg en su superficie).

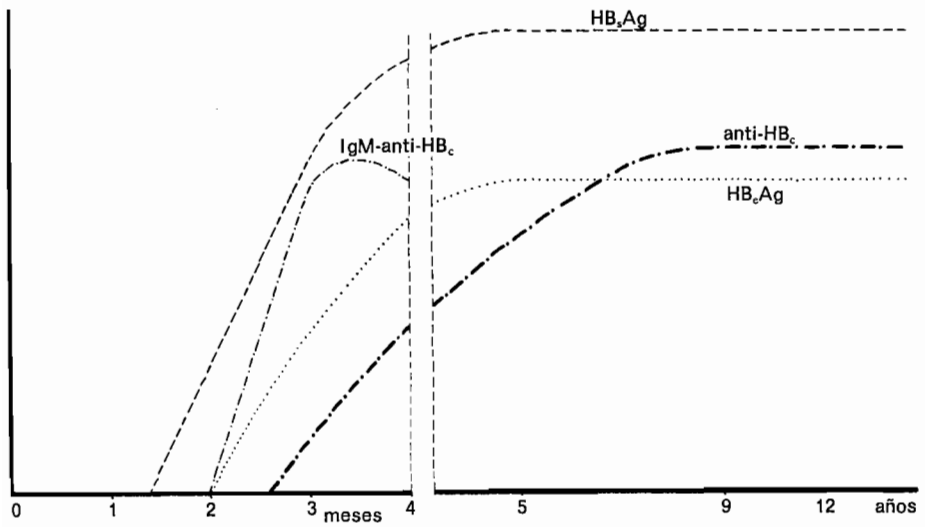


Fig. 66-8. Infección crónica en un portador de HB_sAg, altamente infectivo.

Tratamiento

No existe tratamiento etiológico. Se recomienda un reposo no absoluto, restringiendo de la dieta el alcohol, grasas fuertes, picantes, etc. En las hepatitis crónica y fulminante se instituirá un tratamiento sintomático; los corticoides estarían indicados en las hepatitis crónicas agresivas, y la terapia inmunosupresiva se ha demostrado de mayor utilidad en estos procesos con antigenemia HB_s positiva.

El interferón alfa, procedente de técnicas de ADN recombinante, y el arabinósido de adenina-5-monofosfato (ara-AMP) están siendo ensayados con bastante éxito en las hepatitis crónicas.

Epidemiología

Los sujetos enfermos, que poseen el virus en su sangre, lo eliminan también por la orina, bilis, heces, saliva, sudor, lágrimas, bilis, LCR, leche materna y semen; desempeñan un papel importante los portadores crónicos, que lo son durante muchos años y cuya peligrosidad depende de la presencia de una antigenemia HB_eAg.

Los mecanismos de transmisión son muy variados, y destaca el parenteral a través de sangre contaminada y sus derivados (0,0004 ml de suero contaminado puede transmitir la infección); son los bien conocidos casos de hepatitis postransfusionales de sangre total o sus fracciones, y tras inyecciones, vacunaciones, tatuajes, acupuntura, hemodiálisis periódica, microheridas por material de odontología y manicura, en drogadictos, etc. Asimismo, la manipulación de productos sanguíneos en los laboratorios es una fuente de contagio. Pero también se ha comprobado que la enfermedad puede transmitirse por vía digestiva y áerea (por aerosoles), por artrópodos (*Aedes*) y por transmisión sexual, con mayor incidencia en sujetos promiscuos heterosexuales y homosexuales, donde se ha comprobado que son muy frecuentes los portadores de HB_sAg y HB_eAg. Es altamente endémica en instituciones penitenciarias, personal de las fuerzas armadas e instituciones para retrasados mentales (no en mongólicos) y enfermos del síndrome de Down.

La hepatitis vertical se transmite de la madre al hijo en el momento del parto o poco después (leche, saliva). Aparece si la madre tiene una infección aguda por HBV en el tercer trimestre del embarazo o si es portadora de HB_sAg, y aún con mayor probabilidad, si lo es de HB_eAg; en el primer caso es frecuente que el hijo se haga portador crónico, y en el segundo esta posibilidad depende de factores raciales (más en chinos), geográficos (Asia) o del virus (antígeno HB_e3).

El problema principal de la transmisión perinatal radica en la muy frecuente aparición en estos sujetos de cirrosis y carcinoma hepatocelular.

La enfermedad, a diferencia de la hepatitis A, no posee incidencia especial en alguna estación o por edades, aunque sí es marcada su frecuencia entre los profesionales sanitarios (en España es enfermedad profesional por Real Decreto 1.995 de 12-5-1978), en los que es mayor cuanto más contacto tengan con sujetos enfermos o su sangre. Así, los más susceptibles son las personas que trabajan en los servicios de hemodialisis, laboratorios, enfermería, odontólogos, cirujanos y personal de limpieza, si bien el número de años de permanencia en el centro parece ser el factor más importante.

Profilaxis

El conocimiento precoz de la enfermedad por los datos clínicos, bioquímicos e inmunológicos, junto a una encuesta que permite averiguar una posible infección en los 50-200 días antes, posee un gran interés, al que se añaden los índices de pronóstico que pueda suministrar el estudio de los sistemas antigénicos.

La búsqueda sistemática de portadores crónicos en grupos de población posee gran interés epidemiológico (donantes de sangre, personal hospitalario, embarazadas, etc.) y clínico, pues será necesario conocer la evolución en ellos del proceso infeccioso. Ultimamente se ha utilizado en los portadores el interferón, haciendo desaparecer temporalmente los antígenos en la sangre.

Las medidas más importantes de prevención se basan en la actuación sobre el material contaminado y son las siguientes:

1. Con respecto a las transfusiones, deben evitarse las innecesarias y los donantes retribuidos. Se estudiará en los altruistas la presencia de HB_sAg (que se desechan en caso positivo) y HB_sAc (que deben utilizarse para γ-globulina específica). Las sangres contaminadas deben ser completamente destruidas.
2. En cuanto al material será siempre de uso único y ante la imposibilidad de que sea desechable, se esterilizará por métodos adecuados (tabla 11-5), físicos (autoclave, horno o estufa de óxido de etileno) o químicos (formol, glutaraldehído o cloro, en proporción de 10.000 mg/l). El virus es resistente a la ebullición, alcohol, éter, detergentes, fenol y compuestos clorados, a concentraciones usuales.

En los centros hospitalarios y, sobre todo, en las zonas de alto riesgo infeccioso (ARI) se establecerán normas estrictas, por escrito y visibles para luchar contra la enfermedad: unidades de hemodiálisis, laboratorios, cuidados intensivos, etc.

Se extremarán las medidas de higiene hospitalaria y educación sanitaria.

La profilaxis específica puede realizarse con γ-globulina (GG) o prevención activa mediante vacunas, o con ambas. La GG antihepatítica posee una doble indicación: esporádica en caso de cortes, pinchazos, salpicaduras, etc., de material infectado (comprobado inmunológicamente), en los cónyuges de enfermos o en recién nacidos de madre infectada, y continuada en el personal sanitario de unidades ARI hospitalarias. Se utilizan 4 ml de GG de un título superior a 5.000 U de RIA ó 10.000 U de HAP (hemoglutinación pasiva); en la indicación esporádica se usa una sola dosis y en la continuación, una cada 2-4 meses.

En principio se utilizaron, para la preparación de la vacuna antihepatítica, sueros de infectados tratados por el calor (98 °C, 1 min; 60 °C, 10 horas), pero en algunos casos no se perdía la infecciosidad. Posteriormente, al conocerse mejor la estructura vírica, se usan sueros con HB_sAg, sin partículas Dane ni HB_eAg, tratados por formol a 37°C durante 48 horas o el calor a 101°C durante 90 segundos y luego a 65°C duran-

te 10 horas. Entre los estudios que se han realizado antes del uso clínico de la vacuna, destacan los efectuados en enfermos y personal sanitario de unidades de hemodiálisis, grupos de homosexuales y niños de áreas hiperendémicas del Senegal. Hoy día se utilizan dosis de 20-40 µg/ml adsorbidos en hidróxido de aluminio. Se deben dar tres dosis, las dos primeras separadas por 1 mes y la tercera a los 6 meses.

La vacuna estaría indicada en recién nacidos de madres portadoras de HB_sAg, enfermos y personal sanitario de unidades de hemodiálisis, personal sanitario de alto riesgo infeccioso, homosexuales masculinos, drogadictos, cónyuges de enfermos y portadores crónicos, enfermos de hemofilia y otras discrasias sanguíneas, niños de áreas endémicas, y todas las poblaciones susceptibles citadas en el apartado anterior. Diversos autores consideran, además, que esta vacuna es el mejor método de prevención del carcinoma hepático.

La profilaxis activa-pasiva con vacuna y γ-globulina específica estaría indicada en la prevención postexposicional accidental y en los grupos de alto riesgo, como pueden ser los neonatos, de madres portadoras de HB_SAg. En éstos se debe administrar la GG (3 ml) y primera dosis vacunal al nacimiento, repitiéndose las inmunizaciones (10 µg intramusculares) a los 1 y 6 meses de vida; tests serológicos para determinar HB_sAg y Hb_sAc se realizarán a los 6 y 12 meses, para comprobar el éxito de la inmunización.

Los estudios con el polipéptido mayor y las técnicas del ADN recombinante para producir mayores y más baratas cantidades de vacuna, a partir de una bacteria (*E. coli*) o una levadura (*S. cerevisiae*), especialmente codificadas para ello, constituyen técnicas de inmunización actual.

HEPATITIS DELTA

El agente productor de la hepatitis delta (HDV) es un virus ARN defectivo, que requiere para llevar a cabo su infección y replicación la presencia del HBV (efecto helper). El virión es una partícula de 35-37 nm, constituida por una proteína de peso molecular de 68.000, el antígeno delta (HDAg), asociada a un ARN monocatenario de bajo peso molecular (500.000), todo ello envuelto por HB_sAg (similar al del virus B) (fig. 66-9).

El HDV es, contrariamente al HBV, de elevada patogenicidad, afectando a los que nunca estuvieron en contacto con el HBV y que reciben material que contiene ambos virus (coinfección), o superponiéndose en el portador sano de HBV, que se transforma en enfermo, acelerando una hepatopatía latente si la hubiere (sobreinfección).

El virus HDV puede producir en el hombre hepatitis aguda o crónica. La antigenemia delta es transitoria y ocurre sólo durante la fase inicial de la infección aguda; se detecta en 2-3 semanas, y alcanza su pico con los síntomas clínicos. La desaparición del antígeno δ del hígado y plasma, coincide con la aparición del anti-δ en suero. El diagnóstico de la hepatitis D se basa, pues, en la presencia del sistema antígeno δ y anticuerpos anti-δ en el hígado (inmunofluorescencia e inmunohistoquímica) y en el suero (test de RIA y ELISA para el antígeno δ, anticuerpos totales e IgM anti-δ). El estudio serológico incluirá en todos los casos la batería completa de marcadores de hepatitis B.

Los portadores de HB_sAg constituyen el colectivo principal de la infección delta y la principal fuente de infección; en ellos, el cuadro puede ser confundido con una reactivación del virus B. Sin embargo, el cuadro clínico es más grave o fulminante, quizá por el efecto citopático directo del virus HDV; los HB_cAc-IgM y ADN libre en suero son negativos, y los anticuerpos anti-δ son positivos. En algunos enfermos, el efecto inhibitorio del HDV sobre la síntesis del virus *helper* puede deprimir la síntesis del HB_sAg, y no aparecer éste ni los HB_cAc.

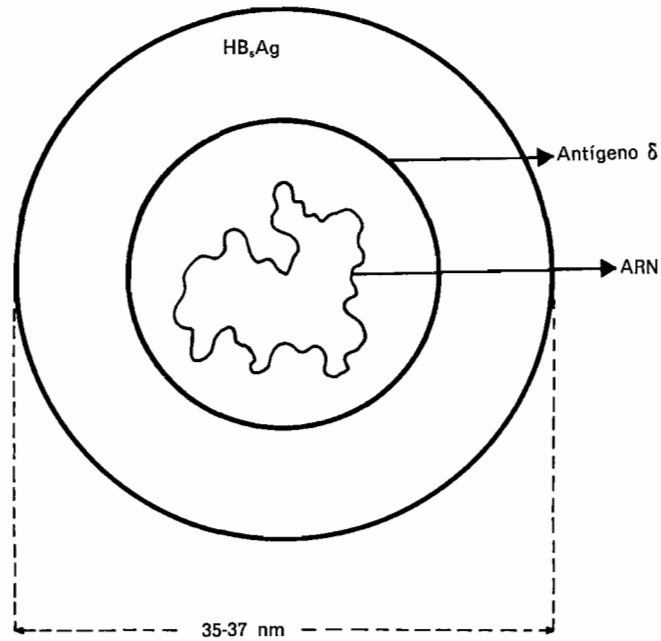


Fig. 66-9. Estructura del agente delta.

El diagnóstico de cronicidad por este virus viene sugerido por la combinación sérica de altos títulos de IgG e IgM anti-HD, y se confirma por el hallazgo del antígeno en los núcleos de las células hepáticas. El test de hibridación por el virus HDV-ARN sérico es un complemento útil en estos pacientes crónicos.

Los factores que determinan el pronóstico de la infección delta en el portador no son bien conocidos; se piensa que la infección B previa con bajo índice de replicación vírica, caracterizada por la presencia en suero de HB_cAc, conlleva un alto riesgo de desarrollar enfermedad delta crónica, en comparación con la infección B activa.

Estudios seroepidemiológicos en diversas partes del mundo han comprobado el alto grado de infección delta en las poblaciones, sobre todo de los países mediterráneos, Europa oriental, Polinesia, cuenca del Amazonas, Estados Unidos y Australia. En los países escandinavos es muy baja.

El HDV y el HBV se transmiten de la misma manera, siendo la inoculación parenteral directa la vía más eficiente (agujas contaminadas en toxicómanos y tatuajes, transfusiones en hemofílicos, etc.). En el momento actual la transmisión vertical y la sexual del HDV parecen ser irrelevantes.

El uso de alfa-interferón durante 3 meses, en los sujetos infectados, ha dado buenos resultados, disminuyendo los títulos de transaminasas.

HEPATITIS NO-A NO-B

En el 15-40 % de todas la hepatitis víricas y el 60-80 % de las postransfusionales, no puede demostrarse alteración in-

munológica frente a los virus A y B, ni los otros agentes víricos descritos al principio del capítulo. Estas hepatitis, aún no definitivamente encuadradas, constituyen un grupo importante de cuadros clínicos, que se denominan hepatitis no-A no-B (NANB).

En estas hepatitis, que han sido transmitidas a chimpancés y voluntarios humanos, se han aislado diferentes tipos de partículas ADN de pequeño (20-27 nm), mediano (35 a 40 nm) y gran (60 nm) tamaño, y partículas de ARN. Asimismo se han demostrado partículas en concentrados de productos hemáticos (fibrinógeno, factor VIII). Por reacciones inmunológicas variadas se ha comprobado también la existencia de complejos antígeno-anticuerpo en el suero de enfermos y animales inoculados. Todo ello sugiere que son varios los virus responsables de las hepatitis no-A no-B.

Clínicamente, tras un período de incubación muy variable (1-33 semanas) puede aparecer una hepatitis aguda o, lo que es más frecuente, crónica, pero en todo caso destaca la mayor proporción de casos anictéricos y la mayor tendencia a la cronicidad y a menudo a las formas de hepatitis crónica activa, cirrosis e incluso carcinoma hepatocelular.

Al microscopio electrónico se han observado estructuras tubulorreticulares citoplásmicas de doble pared, semejantes a tubos de ensayo y formas en anillo, que tienen 150-300 nm de diámetro y hasta 2 μm de longitud, que no aparecen en las hepatitis A ni B, pero sí en enfermos de SIDA. Estos túbulos aparecerían en las hepatitis NANB inducidas por partículas de virus sensibles al formol y cloroformo, pero no en las inducidas por virus resistentes a aquéllos, por lo que serían dos agentes distintos productores de hepatitis NANB.

Se ha demostrado la reactividad antigénica cruzada entre el HB_eAg3, HB_cAg y HB_sAg con el agente NANB, por lo que algunos autores lo han denominado HBV-*like*.

El diagnóstico es difícil por la ausencia de técnicas específicas para detectar los agentes etiológicos. Por ello, en estos casos se realizarán todos los parámetros inmunológicos de los virus productores de las hepatitis A, B y D, de los citomegalovirus y del virus de Epstein-Barr. Si dan negativos, se sospecha que estamos ante una hepatitis no-A no-B.

Recientemente, Tabor ha propuesto la existencia de tres tipos de hepatitis NANB, que se diferenciarían por sus características clínicas y epidemiológicas:

1. Hepatitis NANB de transmisión sanguínea. Estarían causadas por un virus sensible al formol, cloroformo y calor 60 °C durante 10 horas), con capacidad de transmitirse a chimpancés, produciéndoles las lesiones tubulares en el citoplasma de los hepatocitos. En el suero de los pacientes se ha descrito una transcriptasa inversa (¿retrovirus?). Un 71 % de los sujetos permanecen asintomáticos y un 46 % desarrollan formas crónicas, con ALT elevada, y en la biopsia hay evidencia de una hepatitis crónica activa o persistente.

2. Hepatitis NANB transmitida por factores de coagulación (VIII y IX). Se debería a un virus de 27 nm, resistente al cloroformo, pero sensible al calor, por lo que el uso del calentamiento del plasma a 60 °C durante 10 horas eliminaría el agente en los factores antedichos, de tanta importancia en el tratamiento de los hemofílicos. El virus no da lugar a estructuras tubulares en el hígado y clínicamente produce cuadros menos graves y con un período de incubación más corto.

3. Hepatitis NANB de transmisión hídrica epidémica. Se trataría de partículas de 27-30 nm, que aparecen en las heces y dan lugar a anticuerpos sin detectarse HAV-Ag, tipo IgM. Su epidemiología es similar a la de la hepatitis A, y clínicamente cursa con fiebre y artralgias, hecho que no se da en los dos grupos anteriores de hepatitis NANB.

Las hepatitis NANB tienen una distribución mundial, reconociendo este origen alrededor de un 20 % de todos los cuadros en Europa y Estados Unidos, y un 45 % en Japón. La mitad de los casos incide en poblaciones con edades comprendidas entre 20 y 29 años.

La profilaxis es difícil, vigilándose las tasas de ALT en los donantes de sangre, lo que ha disminuido claramente la incidencia de los cuadros, así como el tratamiento del plasma para la obtención de factores. La γ-globulina antihepatitis B ha demostrado reducir la incidencia de los casos en unidades de hemodiálisis.

Los próximos años marcarán el necesario conocimiento de la etiología, diagnóstico, prevención y tratamiento de estas hepatitis.

BIBLIOGRAFIA

Bianchi, L.; Sickinger, K., Gerok, W., y Stlader, G. A.: Virus and the liver. Falk Symposium n.º 28. MTP Press, Lancaster, 1980.

Deinhart, F., y Gust, I. D.: L'hepatite virale. Bull. OMS, 61, 193-232, 1983.

Deinhart, F., y Deinhart, J.: Viral hepatitis: Laboratory and clinical science. Marcel Dekker, New York, 1983.

Feinstone, S. M.: Non-A non-B hepatitis. En Belshe, R. B. (dir.): Textbook of Human Virology, 757-777. DSG Publ., Littleton, 1984.

Frösner, G.: Hepatitis A virus. En Belshe, R. B. (dir.): Textbook of Human Virology, 707-727. PSG Publ., Littleton, 1984.

Gerety, R. J.: Non-A non-B hepatitis. Academic Press, New York, 1981.

Hollinger, F. B., y Melnick, J. L.: Viral hepatitis. En Fields, B. N. (dir.): Virology, 1.373-1.494. Raven Press, New York, 1985.

Krugman, S.: Viral hepatitis: 1985 Update. Pediatrics in Review, 7, 3-11, 1985.

Maroto, M. C.: Hepatitis no-A no-B. Aspectos recientes. Ann. Real Acad. Nac. Med. Madrid, 555-586, 1983.

Maroto, M. C., y Piédrola, G.: Nuevos conocimientos sobre las hepatitis víricas. Laboratorio, 69, 349-378, 1980.

Maupas, P., y Guesry, P.: Hepatitis B vaccine. Elsevier, Amsterdam, 1981.

Sánchez-Quijano, A.; Lissen, E.; Leal, M.; Pineda, J. A., y Andreu, F.: Hepatitis vírica. C. Minerva, Sevilla, 1985.

Szmuness, W.; Alter, H. J., y Maynard, J. E.: Viral hepatitis: 1981 International Symposium. Franklin Inst. Press, Philadelphia, 1982.

Tabor, E.: Los tres virus de la hepatitis no-A no-B. Lancet (ed. esp.), 7, 121-123, 1985.

Tiollais, P.; Pourcel, Ch., y Dejean, A.: The hepatitis B virus. Nature, 317, 489-495, 1985.

Trepó, C., y Lindberg, J.: Non-A non-B hepatitis. Scand. J. Gastroenterol., 17, 75-92, 1982.

Verme, G.; Bonino, F., y Rizzeto, M.: Viral hepatitis and delta infection. Alan R. Liss, New York, 1983.

Capítulo 67

Virus e infecciones lentas

Gonzalo Piédrola-Angulo

CONCEPTO

El concepto de virus lentos fue introducido por Sigurdsson, en 1954, al estudiar las infecciones neurológicas del tipo del rida, en las ovejas de Islandia. Se trataría de virus que dan cuadros clínicos con períodos de incubación muy largos, de 5 a 20 ó más años. Efectivamente, al lado de las infecciones víricas agudas (sintomáticas o no), existen otras no agudas, que podemos clasificar en:

Crónicas. El virus puede detectarse continuamente en los tejidos o humores del individuo (infecciones tolerantes y persistentes), o se detecta de forma discontinua, sin sintomatología alguna (adenovirus en tejidos linfoides).

Latentes. Cursan con intervalos de aparición o no del virus y de sintomatología clínica. Es el caso de aftas recurrentes en caras o genitales, por latencia de los virus del herpes simple en las células nerviosas, o de herpes zoster, por latencia del virus de la varicela en el mismo tipo de células.

Lentas. Tras un largo período de tiempo dan lugar a un cuadro clínico progresivo y casi siempre fatal, de tipo neoformativo o degenerativo. Estos últimos son los verdaderos procesos víricos lentos.

Como el carácter lento de estos virus es una apreciación subjetiva, no algo intrínseco del virus, y depende en gran parte de la respuesta inmunitaria del huésped, y el rasgo distintivo de estos cuadros es el largo período de incubación, preferimos la denominación de *procesos víricos lentos*, que podemos definir como *grupo de infecciones producidas por agentes víricos, caracterizados por su largo período de incubación (meses o años) y una lenta instauración de los síntomas clínicos, que de una forma grave y progresiva llevan a la muerte del sujeto.*

PATOGENIA

La aparición de procesos víricos lentos depende del agente causal y del huésped. Veamos el papel de ambos, estudiando, sucesivamente, la patogenia alterada de los virus o agentes productores, las respuestas ineficaces de la inmunidad humoral y celular, el papel del interferón y células macrofágicas, y, por último, los factores genéticos del huésped.

Agentes causales

Los virus que dan infecciones retardadas tienden a causar unas mínimas alteraciones citopáticas; así, ocurre en el virus de la rubéola, sarampión, rabia, coriomeningitis linfocitaria (CML) y visna, entre los ARN, y en los herpesvirus, entre los ADN. En la interacción virus-célula parasitada existen dos tipos de infección: la *productiva*, que da lugar a nuevas partículas víricas con lisis o no de la célula huésped, y *no productivas*, que pueden ser abortivas (se expresan algunas funciones víricas, pero no pasan a las células hijas), lisogénicas (bien conocidas) y quiescentes, en las que el genoma vírico queda retenido en la célula de forma no integrada y puede expresarse o no (caso de las virosis lentas).

El porqué de la alteración vírica en estos procesos se ha intentado explicar de diversas formas: en unos casos por la presencia de *partículas defectivas*, formadas en el curso de la replicación; así, el virus de la CML posee distintas propiedades cuando es aislado de infecciones persistentes del ratón que cuando lo es de afecciones agudas.

En 1984 se han identificado en las células cerebrales lesionadas de ovejas enfermas de SCRAPIE y en sujetos afectos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (CJD), unas fibrillas (*scrapie-associated fibrils*, SAF), de 10-20 nm de diámetro y 100-500 nm de longitud; estas partículas serían infecciosas en forma de agregados proteicos: las SAF son agregados infecciosos de priones. Los priones (*proteinaceous infectious particles*) son partículas proteicas infecciosas, capaces de reproducirse y que no contienen en su molécula ni ADN ni ARN, aunque todavía no puede excluirse que tuvieran un corto fragmento de ácido nucleico, protegido por la molécula de proteína. Con un tamaño de 5 nm, inferior al de los viroides, su componente fundamental es una glicoproteína, llamada PrP (*Prion Protein*). Su peso molecular es de 27.000-30.000 daltons, que correspondería a una cadena de al menos 250 aminoácidos, de los que se ha identificado la secuencia de los 15 primeros del extremo amino. El descubrimiento de los priones ha revolucionado el mundo de la biología, pues hasta ahora la síntesis proteica se encontraba basada en un ADN, capaz de transmitir al ARN un código genético impreso en su cadena de nucleótidos. La presencia de proteínas de bajo peso molecular, capaces de reproducirse en células de mamíferos y dar origen a cuadros clínicos, ha sido verdaderamente revolucionaria.

Las placas amiloides y las neurofibrillas, encontradas en el *scrapie* y en las enfermedades de Creutzfeldt-Jacob y de

Tabla 67-1. Enfermedades relacionadas con los priones

Enfermedad	¿Causada por priones?	Especies hospedadoras naturales	Especies hospedadoras experimentales	Período de incubación
Prurito lumbar	Sí	Ovejas, cabras	Ratones, hámsters, monos	De 2 meses a 2 años o más
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	Sí	Humanos	Antropoides, monos, ratones, cabras, cobayos	De 4 meses a 20 años o más
Kuru	Probablemente	Humanos	Antropoides, monos	De 18 meses a 20 años o más
Síndrome de Gerstmann-Straussler	Probablemente	Humanos	Antropoides, monos	18 meses o más
Encefalopatía transmisible del visón	Probablemente	Visón	Monos, cabras, hámsters	De 5 meses a 7 años o más
Enfermedad por agotamiento crónico	Probablemente	Ciervo, alce	Hurones	18 meses o más

Tomado de Prusiner, S. B., 1984.

Alzheimer, se ha comprobado que son agregados de priones, unas 1.000 moléculas de PrP ensambladas en estado cristalino. Ello se ha realizado mediante anticuerpos anti-PrP y por tinción por rojo de Congo. Los priones se consideran también los agentes probables de otras dos enfermedades nerviosas humanas, el *kuru* y el síndrome de Gerstmann-Strässler (GSS).

Las principales enfermedades relacionadas con los priones se recogen en la tabla 67-1.

Respuesta alterada de la inmunidad humoral

Los anticuerpos neutralizan los virus normalmente por tres mecanismos diferentes: bloqueando la adsorción o adherencia del virus a la célula, previniendo la entrada en ella o impidiendo la descapsidación y replicación precoz en su interior. Estas acciones pueden fallar por cinco causas diferentes (Mims):

Tolerancia, por la infección muy precoz en la vida. Los ratones, infectados previamente al nacimiento con virus CML, muestran una persistencia de altas cantidades de antígenos por vida, una tolerancia.

Autoinmunosupresión. Durante el momento en que muchos virus (CML, citomegalovirus, plasmocitosis vírica, etc.) se están replicando en las células linfoideas para inducir la respuesta inmune, se deprime específicamente ésta. Así, el virus del sarampión, que se replica en los tejidos linfoides y deprime específicamente los linfocitos T, daría lugar a la infección continua, causa de la panencefalitis esclerosante subaguda.

Producción de anticuerpos no neutralizantes. En las infecciones por virus CML, plasmocitosis vírica, leucemia murina, etc., los anticuerpos detectados son capaces de reaccionar específicamente con su antígeno vírico, pero no le quitan su poder infectante y los complejos antígeno-anticuerpo circulantes son infecciosos. El porqué de esto no está bien dilucidado, y se considera que se debe a que están dirigidos a sitios «no críticos» de la superficie del virión o a que éstos están en acumulaciones o por la presencia de anticuerpos IgM anti-IgG, que neutralizarían estas últimas.

Insuficiente cantidad de antígeno vírico en la superficie celular. En este caso, la lisis mediada por anticuerpos no tiene lugar y se favorece la continuidad de la infección.

Propagación del virus directamente de célula a célula. Por último, puede ser que el virus se propague directamente de célula a célula, sin pasar por los líquidos extracelulares y, por tanto, al abrigo de los anticuerpos. Este hecho se ha demostrado con los herpesvirus en los epitelios de revestimiento y en el sistema nervioso central.

Respuesta alterada de la inmunidad celular

Además de la existencia de una tolerancia y autoinmunosupresión, como en la inmunidad humoral, podrían existir:

Anticuerpos bloqueantes. Impiden la acción viricida de las células K, como se ha demostrado en la CML y otros virus oncógenos.

Insuficiente cantidad de virus en la superficie. Haría escapar las células infectadas de los linfocitos sensibilizados.

Los inmunocitos no alcanzan las células infectadas. Los virus que son eliminados por la saliva (herpes simple, citomegalovirus, rabia), leche (virus de los tumores mamarios) y orina (poliomavirus del ratón) se liberan por la luz de las glándulas, a donde no llegan los anticuerpos ni las células inmunitarias; las IgA no tendrían ningún efecto en las infecciones lentas.

Alteraciones en la respuesta al interferón

Los ratones infectados por virus de la CML no producen interferón *in vivo* ni sus células lo hacen *in vitro*, pese a que producen una respuesta normal de aquél a otros virus, es decir, el defecto se da específicamente al virus de la CML. En las infecciones humanas tipo varicela-herpes zoster se produce muy escaso interferón; los adenovirus y los citomegalovirus, por otro lado, son insensibles a él. En el kuru, *scrapie*, etc., no hay producción alguna de interferón. Estos hechos sugieren el papel que esta ausencia tendría en las virosis lentas.

Papel de las células macrofágicas

Los macrófagos, que tan importante papel desempeñan en las infecciones víricas, podrían llevar a un proceso lento por tres vías distintas: el interferón que producen no es protector para otros macrófagos, los complejos antígeno-

anticuerpo permanecen infecciosos durante largo tiempo después de ser fagocitados (plasmocitosis vírica) y, por último, se ha demostrado que los macrófagos infectados son poco activos en eliminar los virus homólogos al que poseen, favoreciendo la viremia persistente.

Factor genético del huésped

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se ha demostrado en 8 familias con múltiples casos, y se ha comprobado una transmisión dominante autosómica. En la plasmocitosis vírica es indudable que los visones homocigóticos para el gen aleutiano (color gris azulado del pelaje) contraen más gravemente la enfermedad. Hechos similares ocurren en ratones blancos (para la CML), ovejas (*scrapie*) e incluso en la persistencia del virus B de la hepatitis humana en sujetos con antígenos HLA-B8.

Estos datos sugieren la existencia de algún factor genético, que en muchos casos se ha comprobado que es una alteración hereditaria del sistema inmune, la cual favorecería la lentitud de la infección. Pero, muchas veces, es difícil separar los verdaderos efectos genéticos de la transmisión vertical del agente vírico o de los factores ambientales comunes que intervienen en una comunidad cerrada (kuru).

CLASIFICACION

Brody y Gibbs clasificaron, en 1976, las infecciones víricas lentas en dos grandes grupos (tabla 67-2).

1. Las producidas por virus *no convencionales* (agentes del kuru, CJD, *scrapie* y encefalopatía del visón).
2. Las producidas por virus *convencionales* (sarampión, rubéola, etc.).

Muchos autores consideran que las únicas infecciones lentas son las primeras. A efectos didácticos, se estudian aquí tanto unas como otras.

Nuevas enfermedades pueden incluirse en este capítulo de procesos víricos lentos; por esto, con criterios patógenos e histopatológicos, se dividen en cuatro grandes grupos, que se recogen en la tabla 67-3.

Tabla 67-2. Clasificación de los agentes productores de afecciones lentas

	Virus	
Propiedades	Convencionales	No convencionales
Morfología	Posee	No posee. ¿Fibrillas?
Acido nucleico	ADN o ARN	No detectado
Sensibilidad a		
Calor	Sensible	Estable
Rayos X	Hipersensibles	Alta resistencia
Rayos ultravioleta	Hipersensibles	Alta resistencia
Estabilidad física	Baja	Alta
Antigenicidad	Posee	Posee
Filtrabilidad	Pasa a través de los filtros bacterianos	Pasa a través de los filtros bacterianos
Infectividad	En relación con el virión	¿En relación con la proteína?
Capacidad de inducir procesos inflamatorios	Sí	No

Tabla 67-3. Principales enfermedades por virus lentos

- Encefalopatías degenerativas subagudas espongiformes:
  - En el hombre
    - Kuru
    - Enfermedad de Creutzfeldt-Jacob
    - Enfermedad de Alpers
    - Síndrome de Gerstmann-Sträussler
  - En los animales
    - *Scrapie* (rida) de la oveja
    - Encefalopatía transmisible del visón
    - Enfermedad degenerativa crónica de alces y mulos en cautiverio
- Encefalopatías inflamatorias subagudas:
  - En el hombre
    - Sin desmielinización primaria
      - Panencefalitis esclerosante subaguda
      - Panencefalitis progresiva rubeólica
    - Desmielinizante: leucoencefalopatía multifocal progresiva
  - En los animales
    - Visna-maedi de las ovejas
    - Neumonía progresiva de Montana (oveja)
    - Zwowgerziekte (oveja)
    - Enfermedad de Borna de los caballos
- Afecciones no nerviosas, por inmunocomplejos y/o anticuerpos no neutralizantes:
  - En el hombre
    - Fiebre hemorrágica argentina y similares
  - En los animales
    - Coriomeningitis linfocitaria del ratón
    - Enfermedad aleutiana del visón
    - Anemia infecciosa equina
    - Virus LDH
    - Leucemia murina
    - Leucemia aviar
    - Enfermedad de Marek de las gallinas
    - Reovirus murinos
    - Virus lentos de las parálisis de las abejas
- Otras afecciones lentas en estudio:
  - En el hombre
    - Enfermedad de Alzheimer
    - Esclerosis en placas
    - Esclerosis lateral amiotrófica
    - Enfermedad de Parkinson
    - Epilepsia continua
    - Meningoencefalitis
    - Enfermedad de Behçet
    - Uveoencefalitis
    - Rabia
    - Neuropatía de Giraud
    - Infecciones por herpesvirus
    - Síndrome de Guillain-Barré
    - Enfermedad de Crohn
    - Colitis ulcerosa
    - Hepatitis víricas (B y no A no B)
    - Neoplasias de origen vírico
  - En los animales
    - Rabia
    - Peste porcina africana
    - Herpesvirus animales

Encefalopatías degenerativas subagudas espongiformes

Las características comunes a todas ellas son:

1. Un período *largo y asintomático de incubación, que dura meses o años.*

2. Un síndrome clínico progresivo, con mayor o menor afectación del *sistema nervioso central*, en la que nunca faltan la ataxia, temblores o inestabilidad postural. Cursa sin fiebre.

3. Típicas lesiones histopatológicas del sistema nervioso central: vacuolización neuronal, picnosis, cromatosis, estado espongioso, gliosis y aumento del número de astrocitos. Nunca hay desmielinización, reacción meníngea ni reacción inflamatoria. Aparecen en muchos casos placas amiloides, por depósito de un material con estructura fibrillar.

4. No hay respuesta inmunológica detectable, no aparecen anticuerpos ni se produce interferón.

5. Pueden transmitirse con un cuadro clínico similar a los de diferentes animales de laboratorio, por diversas vías de inoculación (tabla 67-1).

6. Los agentes transmisibles, virus no convencionales o priones, tienen unas características físico-químicas poco corrientes: termoestabilidad a 80-85 °C y resistencia a compuestos químicos (formaldehído, β-propiolactona, EDTA, hidrólisis por cinc y nucleasas) y físicos (radiaciones ultravioletas, ionizantes y ultrasonidos), a los que los virus usuales son sensibles. Sí son sensibles a proteasas y dietilpirocarbonato, hechos característicos de las proteínas.

No crecen en los cultivos celulares, ni se visualizan al microscopio electrónico, más que como varillas de priones. Son filtrables, específicos de especie y se replican no sólo en el cerebro, sino en el bazo y sistema reticuloendotelial.

Kuru

Esta enfermedad, descrita en 1957, aparece en una zona montañosa de la región oriental de Nueva Guinea y en un grupo lingüístico, el *fore*, con costumbres caníbales. El agente es una partícula filtrable por membranas de 220 nm, transmisible a diversos tipos de monos y que produce en ellos una enfermedad tras 10 meses a 8 años de período de incubación.

En el hombre, tras un período de incubación comprendido entre 14 meses y 20 años, produce, sobre todo en mujeres y niños, un cuadro de ataxia cerebelosa con marcado temblor (kuru) de cabeza, tronco y extremidades, y que evoluciona en tres fases: ambulatoria, sedentaria o incapacidad para caminar, y terminal, que lleva fatalmente a la muerte entre los 3 y los 9 meses del comienzo de los síntomas.

Las lesiones histológicas cerebrales son las antes descritas de una encefalopatía espongiforme, con unas placas amiloides (placas del kuru) formadas por acúmulos de varillas de priones y similares a las de la enfermedad de Alzheimer, lo que es de gran interés para el mejor conocimiento de la posible etiología infecciosa de esta enfermedad.

Gajdusek fue el primero en explicar la transmisión de la enfermedad: las mujeres de la tribu, que viven con los niños de ambos sexos, extraen el cerebro de los parientes fallecidos, que estrujado a mano hasta formar una pulpa es colocado dentro de un cilindro de bambú, calentado e ingerido como señal de luto. Dada la termoestabilidad del agente y su alta concentración (10^7-DL_{50} por gramo de tejido), no es completamente inactivado y, al ingerirlo o al manipularlo, por cortes o heridas en la piel, las mujeres y niños se contaminarían; desde 1962, en que se abandonaron estas prácticas, no han aparecido casos en los nacidos posteriormente a esta fecha.

Enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (CJD)

Es un proceso degenerativo de la sustancia gris del sistema nervioso central, que afecta a sujetos adultos comprendidos entre 40 y 70 años de edad, con carácter hereditario autosómico dominante; tras un comienzo de trastornos psíquicos lleva a la demencia (a diferencia del kuru), afectación cerebelosa, rigidez y rápidamente la muerte. Se ha transmitido por ultrafiltrados a diversos primates, cobayos y roedores (tabla 67-1), siempre por inoculación nerviosa periférica o intracerebral, con un período de incubación de 3 meses a 30 años.

Anatomopatológicamente, aparecen las lesiones comunes para todo este grupo, destacando su extensión mayor que en el kuru y la aparición de las fibrillas (SAF), ya citadas, formadas por agregados infecciosos de priones. En un 60 % de los enfermos, al igual que en las otras enfermedades del grupo, se han demostrado anticuerpos autoinmunes frente a las fibrillas.

Se han descrito tres tipos clínicos: el tipo 1 de curso agudo (muerte en 1-5 meses) con trastornos visuales, demencia, afasia y mioclonía; el tipo 2, subagudo (3-9 meses), con trastornos cerebelosos y demencia, y el tipo 3 ó forma crónica (1-2 años), con síntomas parkinsonianos y de los tipos anteriores.

La distribución de los casos es mundial, y, aparte el factor genético, destaca en los enfermos el antecedente de infecciones respiratorias de vías altas, el haber ingerido cerebros de animales, con preferencia sesos de cerdo, o globos oculares ovinos (árabes). Se ha observado una gran incidencia de CJD en pacientes sometidos a neurocirugía y operaciones oftálmicas, lo que hace pensar que la transmisión sería por sangre o líquido cefalorraquídeo; se ha descrito un caso por trasplante de córnea y dos por electrodos de EEG en sujetos jóvenes, tras haberlos utilizado 3 años antes en una enferma.

En la enfermedad de Alzheimer, caracterizada por placas seniles intracerebrales, se ha conseguido también, aunque sólo en dos casos, la transmisión a primates, provocándoles una encefalopatía espongiforme. También se ha conseguido la transmisión en el síndrome de Gerstmann-Sträussler, caracterizado por lesiones en la sustancia blanca. Por ello, Gajdusek piensa que la CJD, la enfermedad de Alzheimer y el GSS serían una sola enfermedad, la *demencia por virus transmisibles*.

Como se ha demostrado la posibilidad de un contagio interhumano en la CJD, se recomienda un especial cuidado en el manejo del material posiblemente contaminado, siendo los productos más adecuados para la destrucción de agentes tan resistentes el autoclave, los agentes oxidantes fuertes (hipoclorito, permanganato, peryodato), la sosa, el cloroformo, el fenol, el cloroetanol y los detergentes de fuerte acción desnaturalizante. La amantadina, administrada precozmente a los enfermos de CJD, parece tener efecto beneficioso.

Encefalopatías espongiformes de los animales

Poseen gran interés, pues su estudio ha permitido el conocimiento de los agentes y de los mecanismos de su acción patógena. El *scrapie* o encefalitis temblorosa ovina posee un período de incubación de 2-3 años; para muchos autores, el agente productor sería el mismo que el causante de la CJD.

Desde un punto de vista epidemiológico y actualmente comprobado por transmisión oral en primates (período de incubación de 2 a 3 años), se piensa que el *scrapie* sería una zoonosis ovina y caprina de transmisión entre estas especies por vía congénita y alimentaria, y extensible al visón (encefalopatía del visón) por ingestión de carnes infectadas y a otros animales por canibalismo. El hombre adquiriría la enfermedad directamente del cordero, comiendo carnes infectadas, o por transmisión interhumana, congénita, transfusiones o trasplantes; estas mismas vías serían las seguidas en la enfermedad de Alzheimer. Por todo ello, algunos autores aceptan que los agentes de las diferentes encefalopatías espongiformes subagudas no serían más que cepas de un solo microorganismo, que ha sido modificado por los distintos huéspedes (Gajdusek).

Ultimamente, se piensa que los priones del *scrapie*, una vez que invaden al huésped, se replican en órganos linfáticos periféricos, antes de detectarse en el cerebro. Parece que los priones llegarían a éste por vía centrípeta, a través del sistema nervioso vegetativo, iniciando la invasión nerviosa a nivel torácico y pasando al sistema nervioso central a una velocidad de 1 mm por día. Estudios genéticos hacen pensar que el período de incubación depende de un gen llamado *Sinc (Scrapie incubation)*, que se activaría por la infección de los priones. Si el prion contiene una pequeña cantidad de ácido nucleico (que sería siempre inferior a 50 nucleótidos), aquél desencadenaría la actividad del gen (teoría de Prusiner).

La *encefalopatía del visón* está producida por otro virus no convencional de 50 nm, resistente al formol, éter y calor; como todos los anteriores, no ha podido visualizarse ni cultivarse, pero sí transmitirse, incluso por vía oral, a otros visones, mofetas, hámster, ovejas, cabras y monos, con un período de incubación de 8-11 meses.

Encefalopatías inflamatorias subagudas

Se caracterizan, a diferencia de las espongiformes, por la existencia de una reacción inflamatoria perivascular, seguida de una proliferación glial y desmielinización. En algunas de ellas predomina el componente desmielinizante (LMP) y todas están relacionadas con virus convencionales.

Panencefalitis esclerosante subaguda (PEES)

Es una enfermedad progresiva y fatal del sistema nervioso central que afecta predominantemente a niños varones de 4 a 12 años, tras un período de incubación de 6 años. En ellos se describió primero que en el suero y LCR había un elevado título de anticuerpos antisarampionosos, y en 1969 mediante técnica de hibridación celular *in vitro* estimulada con virus Sendai se consiguió demostrar el virus del sarampión, primero en el cerebro y después en los ganglios linfáticos. Se ha comprobado también que estos virus son defectivos y aparecen aislados o formando inmunocomplejos. La situación «permisiva» al virus en el sistema nervioso se considera que es debida a que la partícula vírica defectiva o mutante queda bloqueada en un estadio del ciclo de replicación, posterior a la elaboración del nucleocápside y anterior al proceso de gemación vírica a través de la membrana citoplásmica.

La patogenia de la enfermedad se explicaría así: el padecer pronto el sarampión (antes de los 2 años de vida), en presencia aún de anticuerpos maternos, interfiere en la respuesta inmune normal y permitiría al virus sarampionoso establecer una infección crónica. La observación de que existe una alteración de la respuesta inmunitaria estaría apoyada en otros hechos: las IgG altas en suero y LCR, los inmunocomplejos, el fallo de los linfocitos T, los niveles de IgA bajos, etc.

Para algunos autores, el paso esencial en el desarrollo de la PEES estaría en el momento en que el virus sarampionoso (ARN) codificara mediante una transcriptasa inversa la forma ADN; ésta se replicaría y daría lugar a los nucleocápsides que se observan en el interior de las células (inclusiones intranucleares acidófilas del tipo A de Cowdry).

Panencefalitis progresiva rubeólica

Es un cuadro clínico no común que afecta a niños que padecieron rubéola congénita y a la edad de 10-14 años inician un cuadro nervioso de ataxia, espasticidad y defectos psicológicos, en el que existen anticuerpos específicos séricos y altos títulos y lesiones histopatológicas cerebrales de tipo inflamatorio. El sistema inmunitario, humoral y celular, está afectado.

Leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP)

Este raro proceso desmielinizante se produce en enfermos con afecciones malignas, predominantemente del sistema reticuloendotelial. Del cerebro de sujetos enfermos se han aislado dos diferentes tipos de papovavirus: el virus JC y el virus SV40. Aparece en adultos de 40-50 años con linfosarcoma, síndrome de Hodgkin o carcinomatosis, con afectación difusa de los hemisferios cerebrales (parálisis, paresia, afasia, trastornos de la visión, audición y deglución, demencia, etc.); el curso es rápido y lleva al fallecimiento en 3-4 meses. Se han demostrado viriones en los oligodendrocitos, cuya rotura sería la causa directa de la pérdida de mielina.

Encefalopatías inflamatorias de los animales

El *visna* es una leucoencefalitis desmielinizante y el *maedi* una adenomatosis pulmonar, ambos de las ovejas, predominantemente de la raza Karakul; son enfermedades con 2-6 años de incubación que se transmiten por vía aérea.

El agente es un virus de 70-100 nm, con un core central y una envoltura con espículas de 8-10 nm de longitud. Es un virus ARN clásico o convencional, que posee una transcriptasa inversa y es sensible al éter, cloroformo, peryodato, tripsina, etc. Da lugar a anticuerpos demostrables por diversas reacciones serológicas; se ha cultivado en células de plexos coroideos de carnero. Parece ser el mismo agente de la neumonía intersticial progresiva de la oveja, el *zwowgerziekte* de los Países Bajos y la neumonía progresiva de Montana. Hoy está incluida en el grupo *Lentivirinae* (tabla 68-3), junto al virus de la anemia infecciosa equina.

Afecciones por inmunocomplejos

Dos son las más típicas infecciones por inmunocomplejos y anticuerpos no neutralizantes, la plasmocitosis vírica y la coriomeningitis linfocitaria. La enfermedad aleutiana del visón o *plasmocitosis vírica* está producida por un virus (*parvovirus*) de 23-25 nm, que puede demostrarse en el interior de los macrófagos del visón. Ha sido cultivado en células de este animal, de riñón de mono y humanas, cepa WI-38. Lo característico del cuadro es la aparición de anticuerpos específicos a títulos muy altos (superiores a 1/260.000), que no son capaces de neutralizar el virus, y circular los inmunocomplejos infectantes, que son los verdaderos causantes de la enfermedad por depósito en el riñón, hígado, arteriolas, bazo, ganglios, etc.

La anemia infecciosa equina es una enfermedad crónica, con episodios agudos, caracterizada por fiebre, anemia, edemas y abatimiento de los caballos. Es típica la viremia persistente durante años y la aparición de lesiones por los inmunocomplejos virus-anticuerpos-complemento. El virus de 90-140 nm, con envoltura, tiene un ARN de 5,5 Mdaltons, en el que se conocen tres polipéptidos estructurales, dos glicoproteínas, otros 14 polipéptidos y una transcriptasa inversa. Por esta enzima y sus propiedades fisicoquímicas se le considera dentro de la familia *Retroviridae* y cercano al grupo *Lentivirinae* (tabla 68-3). Se ha cultivado tanto en leucocitos como en células renales de caballo.

El virus de la *coriomeningitis linfocitaria* (CML) tiene como huésped natural al ratón casero (*Mus musculus*) y puede provocar en el hombre un cuadro de meningitis aguda con líquido claro. Pero su verdadero interés reside en ser modelo de infección lenta y tolerancia inmunológica. Si se inocula con este virus (ARN, de 50-200 nm, con envoltura y espículas) a un ratón adulto, se produce en 1 semana una afección generalizada y fatal, pero, si el animal es un recién nacido o la infección se produce por vía placentaria, da lugar a una infección persistente, que a los 10-12 meses se manifiesta por una encefalopatía inflamatoria progresiva, con glomerulonefritis por depósito de inmunocomplejos e hiperglobulinemia. Pero si el ratón adulto lo hacemos inmunoincompetente (radiaciones X, inmunosupresores), el animal no sufre lesión alguna, señal de que la verdadera causa del proceso es la respuesta inmunológica.

Otros procesos animales de este tipo se recogen en la tabla 67-3.

Otras afecciones lentas en estudio

De todas las afecciones humanas sometidas a estudio y citadas en la tabla 67-3 destacamos, en primer lugar, la esclerosis *múltiple* en placas, en la que se han aislado muy variados agentes víricos y títulos altos de anticuerpos séricos frente a otros virus. Asimismo se ha comprobado la existencia de un factor genético (haplotipo HLA-A3-B7), un largo período de incubación (20 años) y una alteración de la inmunidad celular.

Tanto en la esclerosis lateral amiotrófica como en la enfermedad de Alzheimer, antes comentada, se ha comprobado la presencia de filamentos o fibrillas de 10 nm, similares a los hallados en las encefalopatías espongiformes subagudas.

La latencia del virus de la *rabia* en los vampiros y la posibilidad de una transmisión aérea y digestiva con un ciclo sin gran citólisis, como el de la infección natural, han sugerido la posibilidad de una persistencia de este virus, que por otro lado produce una gran cantidad de interferón.

Por último, la persistencia de los antígenos víricos en la hepatitis B y no-A no-B, junto a las alteraciones de la hipersensibilidad celular, de base genética, ha hecho que muchos autores incluyan las hepatitis crónicas agresivas en este capítulo, cuyo futuro e importancia son imprevisibles.

BIBLIOGRAFIA

Brown, P.: An epidemiological critique of Creutzfeldt-Jakob disease. Epidemiol. Rev., 2, 113-135, 1980.

Court, L., y Cathala, F.: Virus non conventionnels et affections du Système Nerveux Central. Masson, Paris, 1983.

Gajdusek, D. C.: Unconventional Viruses causing subacute spongiform encephalopathies. En Fields, B. N. (dir.): Virology, 1519-1557. Raven Press, New York, 1985.

Hotchin, J.: Slow virus diseases. Progress in Medical Virology, vol. 18. Karger, Basel, 1974.

Kamin, M., y Patten, B. M.: Hypothesis: Creutzfeldt-Jakob disease transmission to man by eating brains of wild animals. Am. J. Med., 76, 142-145, 1984.

Kirschbaum, W. R.: Creutzfeldt-Jakob disease. Elsevier, Amsterdam, 1968.

Maramorosch, K., y MacKelvey, J. Jr.: Subviral pathogens of plants and animals: Viroids and Prions. Academic Press, New York, 1985.

Masters, C. L., y Gajdusek, D. C.: The spectrum of Creutzfeldt-Jakob disease and the virus-induced subacute spongiform encephalopathies. En Smith, W. T., y Cavanagh, J. B. (dirs.): Recent Advances in Neuropathology, cap. 2, 139-163. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1983.

Masters, C. L.; Gajdusek, D. C. y Gibbs, C. J. Jr.: The familial occurrence of Creutzfeldt-Jakob disease and Alzheimer's disease. Brain, 104, 535-558, 1981.

Meulen, V. T., y Katz, M.: Slow virus infections of the Central Nervous System. Springer, New York, 1977.

Prusiner, S. B., y Hadlow, W. J.: Slow transmissible diseases of the nervous system, vols. 1 y 2. Academic Press. New York, 1979.

Prusiner, S. B.: Prions: novel infectious pathogens. Adv. Virus Res., 29, 1-56, 1984.

Prusiner, S. B.: Priones. Invest. Ciencia, 99, 22-32, 1984.

Timakow, V. D., y Zuev, V. A.: Slow Virus Infections. Mir Publishers. Mockba, 1980.

Capítulo 68

Virus oncógenos. Retrovirus

Gonzalo Piédrola-Angulo

Se entiende por tumor todo crecimiento incontrolable de células en el organismo; si dicho crecimiento permanece localizado, se habla de tumor benigno, pero si el crecimiento es generalizado y con focos a distancia (metástasis), se denomina tumor maligno o cáncer, y puede llevar a la muerte del individuo. Las células de un tumor maligno poseen propiedades morfológicas, metabólicas y antigénicas distintas a las originales, y son capaces de transmitir dichas propiedades a las células hijas. Este conjunto de células nuevas se dice que se han *transformado*. El fenómeno de la transformación puede inducirse por agentes físicos, químicos o biológicos; entre éstos, los virus productores de cánceres, virus oncógenos, se describieron por primera vez en 1908 en la leucemia aviar de Rous, y desde entonces se han efectuado grandes progresos en la etiología vírica de los tumores animales y humanos. En este capítulo se recogen algunos datos de interés de los virus oncógenos animales y de los implicados en tumores malignos del hombre.

TRANSFORMACION VIRICA DE LAS CELULAS

El poder oncógeno de un virus puede demostrarse en los cultivos de células sensibles, donde se observa la transformación celular; además, la inoculación en animales puede inducir producción de neoplasias. Las células transformadas *in vitro* se comportan como tumorales al ser trasplantadas a los animales; las células malignas procedentes de tumores animales, cuando se siembran en cultivos, se comportan como células transformadas.

La infección de un virus en una célula animal es un fenómeno muy parecido a la lisogenia de las bacterias. El virus oncógeno infecta la célula y se integra en su genoma, y en determinadas ocasiones puede lisarla. La forma como tiene lugar la integración no plantea problemas en los virus ADN, pues se trataría de una inserción de ADN en otro ADN. En el caso de los virus ARN, el proceso se debería a una enzima codificada por el ARN vírico, la transcriptasa inversa, que a partir de él produce una cadena complementaria de ADN y se crea un ácido nucleico híbrido con una cadena de ARN y otra de ADN. A partir del ADN del híbrido y gracias a una ADN-polimerasa ADN-dependiente, se sintetizaría una nueva cadena de ADN, que con la anterior formaría un ADN de doble cadena (provirus), capaz de integrarse en el genoma celular. Los estudios en sistemas aviares y murinos han comprobado que el ADN bicatenario aparece en el citoplasma celular a las 3-6 horas de la infección por el virus ARN; a las 6-10 horas se demuestran provirus libres en forma circular cerrada y en el interior del núcleo, y después de las 10 horas se detecta el ADN integrado en el cromosoma de la célula. Este mecanismo de integración directo del ADN vírico o a través de la transcriptasa inversa ARN-dependiente se ha demostrado en la transformación de fibroblastos, pero en las células epiteliales puede que no sea igual.

Cuando un virus induce transformación en un cultivo celular, aparecen pequeños focos de células (microtumores), cada uno de ellos en relación con una partícula vírica. Los cambios que tienen lugar en estas células transformadas son los siguientes:

1. Alteraciones en los caracteres del crecimiento, como pérdida de la inhibición por contacto, aumento de la movilidad celular y de la tasa de crecimiento, cambios en la adhesión celular al sustrato y mayor capacidad para la multiplicación indefinida en el cultivo.
2. Cambios en la morfología celular. Las células son más cortas y redondas, y desaparece el paralelismo entre ellas. Se pierden los microfilamentos citoplásmicos y se adquieren proyecciones sésiles en la superficie celular. Tendencia a la anaplasia y aneuploidía.
3. Anomalías cromosómicas, índice de las alteraciones en el ADN.
4. Alteraciones metabólicas, con incremento de la glucólisis aerobia y de la producción de proteasas, disminución del AMPc, etc.
5. Alteraciones de las propiedades inmunológicas, con la aparición de nuevos antígenos celulares (antígenos embrionarios) y de antígenos propios del virus (antígenos *T, TST*, gs, del virión, etc.).
6. Resistencia a la superinfección por el virus transformante.
7. Capacidad tumoral. Las células transformadas causan tumores, cuando se inyectan en un huésped susceptible, que muchas veces es distinto al que pertenecían las células.

VIRUS ADN ONCOGENOS EN ANIMALES

Diversas familias de virus ADN poseen capacidad oncógena sospechosa por la identificación de partículas víricas en cultivos de células tumorales, por la capacidad transfor-

Tabla 68-1. Principales virus ADN productores de tumores

Virus		Tamaño (nm)	Simetría, estructura	Lugar de maduración vírica	Virus presente en el tumor	Huésped natural	Tumor en huésped habitual
Papovaviridae	Papiloma[1]	55	Icosaédrica 72 c.	Núcleo	Sí	Diversas especies	Sí
	Polioma	40			No	Ratón	No
	SV40	40			No	Mono	No
	BK, JC	40			–	Hombre	?
Adenoviridae	Humanos[2]	70-90	Icosaédrica 252 c.	Núcleo	No	Hombre	No
	Simios				No	Mono	No
	Bovinos				No	Vaca	No
	Aviares				No	Gallina	No
Poxviridae	*Molluscum contagiosum*	230-300	Compleja	Citoplasma	Sí	Hombre	Sí
	Yaba				Sí	Mono	Sí
	Fibroma, mixoma				Sí	Diversas especies	Sí
Herpesviridae	Humano	100	Icosaédrica 162 c.	Núcleo			
	VHS-2				No	Hombre	?
	VEB				No	Hombre, mono	?
	Otras especies[3]				No	Diversas especies	Variable[4]
Parvoviridae	Hepatitis B	42	Esférica	Núcleo	?	Hombre	Sí

[1]Principalmente del hombre (tipos 1 al 6), conejos, bóvidos, perros y caballos.
[2]Principales tipos implicados 12, 18 y 31.
[3]Monos, conejos, gallinas y ranas.
[4]La oncogénesis en el huésped habitual se presenta en las ranas y gallinas.

madora de los virus y por estudios epidemiológicos. En la tabla 68-1 se recogen los principales virus conocidos hasta hoy con posible o reconocida acción oncógena.

Los virus ADN, al inocularlos en las células, pueden dar lugar a infecciones productivas o no, según el tipo de células y su estado fisiológico. Las células permisivas comportan infecciones productivas de viriones con síntesis de gran número de éstos en el núcleo; las células no permisivas sufren transformaciones, y dejan de producirse viriones. A diferencia de los retrovirus, estos virus oncógenos, si producen transformación, no sintetizan viriones y viceversa, es decir, la infección productiva y la transformación celular se excluyen mutuamente. Sin embargo, en ciertas condiciones se ha comprobado que un bajo porcentaje de células no permisivas pueden dar lugar a infecciones productivas o células permisivas sufren transformación. Pero, de ordinario, las células del huésped natural (permisivas) muestran una infección productiva, mientras que las de los huéspedes no naturales (no permisivas) presentan la transformación celular.

Papovavirus

El nombre de papovavirus deriva de las dos primeras letras de los nombres de los tres tipos oncógenos incluidos en este grupo: virus del *pa*piloma humano y animal, virus del *po*lioma del ratón y virus *va*cuolizante, como el *simian virus* (SV40) del mono. Este virus SV40 se descubrió en los cultivos de células de riñón de mono, utilizados para la producción de vacuna antipoliomielítica, y se comprobó que un alto porcentaje de niños vacunados eliminaban virus SV40 durante 5 semanas después de la inmunización y luego presentaron anticuerpos séricos anti-SV40. Actualmente, la familia *Papovaviridae* comprende dos géneros: *Papillomavirus* (55 nm de diámetro y ADN de peso molecular 5×10^6) y *Miopapovavirus*, que comprende los virus del polioma y vacuolizantes (40 nm y $3{,}5 \times 10^6$ de peso molecular). Otros virus humanos se encuentran incluidos entre los papovavirus: virus JC, SV40-LMP y BK (v. más adelante).

Estos virus poseen un ADN bicatenario circular, con cápside de 72 capsómeros, sin envoltura y simetría icosaédrica. El ADN puede ser separado en dos componentes, que son infecciosos y pueden transformar células *in vitro* y producir tumores *in vivo*. El ADN de los virus SV40 y del polioma se conoce hoy con bastante exactitud: el número de pares de bases y su secuencia. Así, el virus SV40 posee 5.224 pares de bases y codifica dos antígenos (T grande y t pequeño) y 3 proteínas constituyentes de la partícula vírica: una mayor VP1 (de peso molecular de 45.000) y dos menores, VP2 y VP3 (de peso molecular de 33.000 y 23.000, respectivamente) (fig. 68-1). La organización genómica de los dos virus es similar, y destaca en ellos un contenido de G + C del 41-49 %, similar al de las células de los mamíferos huéspedes, 40-42 %.

Los virus del papiloma del conejo, y sobre todo el bovino, son oncógenos tanto en las células cultivadas como *in vivo*.

Los virus del polioma, SV40 y BK se replican en células de ratón, mono verde y células renales embrionarias humanas. El virus del polioma es capaz de transmitirse naturalmente de unos ratones a otros, sin producir enfermedad ni tumoración alguna. Pero si se inoculan altas cantidades de virus al ratón o al hámster recién nacido, producen una gran variedad de tumores histológicamente distintos, de ahí el nombre de polioma. Es imposible encontrar virus ni ADN vírico en las células transformadas, pero sí ARNm específico, alteraciones bioquímicas y otras específicas del fenóme-

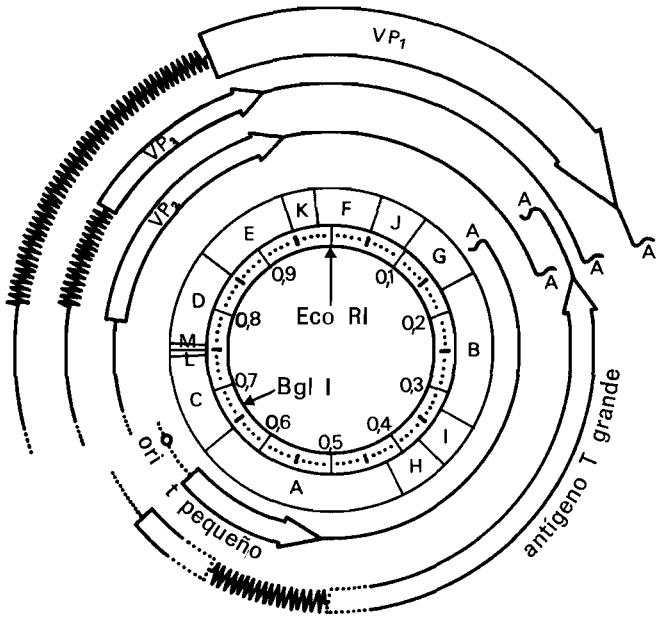


Fig. 68-1. Mapa del genoma del virus SV40. El lugar de actuación de la endonucleasa EcoRI constituye el punto de referencia para el estudio topográfico. El origen de la replicación del ADN (*ori*) corresponde a una secuencia palindrómica de 27 pares de bases, centro de la que existe un *locus* que permite su reconocimiento, al ser susceptible de corte por la endonucleasa Bgl I. El genoma, con 5.224 pares de bases, codifica 5 proteínas representadas por flechas: T, t, VP1, VP2 y VP3. El antígeno T grande es codificado por dos segmentos no contiguos. Los puntos indican el final 5′ y la línea ondulada, el 3′. Las líneas onduladas en las proteínas indican los sitios para la unión de los segmentos. Las letras mayúsculas A, H, I, etc. son los genes. Las partes no traducidas de ARNm se representan como líneas continuas.

no de la transformación, así como la formación de antígenos víricos no estructurales: los antígenos *T*, *TST*, *S* y los embrionarios. Estos nuevos antígenos pueden demostrarse por reacciones de fluorescencia, fijación del complemento, inmunoprecipitación y citotoxicidad. En los tumores sarcomatosos de hámsters recién nacidos inoculados con SV40 aparecen, además de dichos antígenos, el genoma vírico completo e infectante, lo cual no sucede en los otros papovavirus ni en los adenovirus.

El antígeno tumoral *T* grande aparece en el núcleo de las células tumorales o transformadas; es una fosfoproteína (de peso molecular de 90.000-100.000) con actividad ATPasa y proteinquinasa, codificada en SV40 por el gen A (fig. 68-1). El antígeno *t* pequeño es también codificado por la región temprana del genoma SV40 y es una proteína de peso molecular de 17.000-20.000; parece influir en el inicio de la transformación. Una tercera proteína de peso molecular de 48.000-56.000, llamada *T* media y descubierta en células transformadas, es codificada por la célula huésped y no por el virus.

Los antígenos de trasplante específicos de tumor *TST* aparecen en la membrana citoplásmica de las células tumorales, pero no en el virión (en los viriones de los herpes sí se encuentran en la envoltura). Están codificados por el genoma vírico y se denominan así porque, al trasplantar el tumor a un animal singénico previamente inmunizado con estos antígenos tumorales, se produce una reacción de rechazo. Los antígenos superficiales *TST* son específicos, es decir, cada virus produce un *TST* idéntico al de otros tumores causados por el mismo virus y diferente de los causados por otros virus.

Los *TST* de origen vírico son muy inmunógenos, a diferencia de los de origen químico.

Los antígenos *S*, de la superficie celular, distintos de los *TST*, se han demostrado por pruebas de inmunofluorescencia y de inhibición de colonias, mediante sueros de hámster inmunizados con SV40 y que habían resistido a la inoculación de células transformadas.

Los antígenos embrionarios o fetales se encuentran en la superficie de las células transformadas por virus SV40 y aparecerían por desrepresión de regiones del genoma celular, debida a la infección vírica. Su relación con los otros antígenos superficiales no es clara.

En las células transformadas por los virus SV40 se encuentra ADN vírico unido en forma covalente en diferentes lugares del ADN cromosómico celular, junto a los antígenos descritos. La porción del ADN que codifica el antígeno tumoral *T* grande y el gen A está siempre presente en las células transformadas. Este hecho y la desaparición de la capacidad de transformación de las mutantes termosensibles (*ts*A) han llevado al conocimiento de que el gen A es el responsable del inicio y mantenimiento del estado de transformación celular.

El mecanismo de la transformación por los virus ADN (demostrado en papovavirus y adenovirus) sería, pues, la integración del virus en el ADN celular, como un provirus, de una forma análoga al profago en la lisogenia bacteriana o al provirus de los retrovirus. Esta hipótesis se comprueba, además, por la aparición en las células transformadas de fracciones de ARN mensajero vírico pequeñas, pero muy específicas para cada tumor, ARN que se detecta por su capacidad de hibridación con ADN del mismo virus.

Adenovirus

Los adenovirus son agentes muy extendidos entre los animales. Los adenovirus oncógenos, como los que no lo son, son virus desnudos de 70-90 nm de diámetro, con simetría icosaédrica y 252 capsómeros. Su ADN bicatenario tiene un peso molecular de $2{,}3 \times 10^7$, y el contenido de G + C es variable, de 48 a 57 %, pero de gran interés en relación con la oncogénesis.

Diversos adenovirus de los monos (en particular el SA7), el adenovirus bovino tipo 3 y los aviares son oncógenos cuando se inoculan en hámsters recién nacidos.

Los adenovirus, al igual que los papovavirus, producen infecciones en células permisivas y transformación en las no permisivas, con aparición de antígenos *T* específicos (que aquí pueden detectarse no sólo en el núcleo, sino en el citoplasma) y antígenos tipo *TST*. La interacción entre adenovirus y virus SV40, con aparición de partículas PARA, será citada en el papel de los adenovirus en los tumores humanos.

Poxvirus

Los tumores Yaba se descubrieron en monos *rhesus* que vivían en jaulas al aire libre de dicha ciudad de Nigeria. El

virus de morfología semejante al de la *vaccinia* produce, al ser inoculado por vía intravenosa, múltiples histiocitomas subcutáneos, y en las células tumorales aparecen cuerpos de inclusión citoplásmicos y antígenos víricos solubles. El tumor es benigno y los anticuerpos circulantes anti-Yaba no parecen poseer valor neutralizante alguno. La enfermedad puede ser adquirida accidentalmente por el hombre y dar lugar a nódulos que en 8-12 semanas desaparecen espontáneamente.

Herpesvirus

Los herpesvirus son virus con ADN bicatenario, cápside de 162 capsómeros y envoltura con proyecciones derivadas de la membrana nuclear de la célula huésped. De las tres subfamilias en que se divide *Herpesviridae*, la *Gammaherpesvirinae* incluye los más importantes virus oncógenos que intervienen claramente en la etiología de neoplasias malignas de monos, conejos, gallinas y ranas.

Dos virus antigénicamente distintos, aislados de cultivos renales del mono ardilla y del mono araña, el herpesvirus *saimiri* y el herpesvirus *ateles*, respectivamente, se hallan en estado latente en dichos animales, en los que aparecen de forma concomitante anticuerpos circulantes frente a ellos. Pero al inocularlos a otros animales, primates o no, dan lugar a linfomas malignos o enfermedades reticuloproliferativas. En cultivos celulares pueden replicarse estos virus y producir viriones infecciosos y antígenos víricos, también detectables en los linfocitos T. Con vacunas de virus atenuados pueden prevenirse los efectos oncógenos de ambos virus. También se han encontrado en primates virus semejantes al de Epstein-Barr, que pueden causar enfermedades linfoproliferativas en especies afines de monos, con predilección por los linfocitos B.

El herpesvirus *sylvilagus* es causa de linfomas benignos o malignos en el conejo silvestre de cola blanca, si bien no es capaz de infectar al conejo de laboratorio. El virus puede detectarse en leucocitos periféricos y en células linfoides inmaduras del bazo y ganglios.

La enfermedad de Marek de las gallinas es un tumor linfoproliferativo con predilección por el tejido nervioso, maligno, muy contagioso y de origen vírico. Las células tumorales son linfocitos de tipo T, que, además, son infecciosos para otros animales. La transmisión entre los pollos es horizontal, puesto que el virus se multiplica en el epitelio folicular de las plumas y de aquí pasa al medio ambiente; no se transmite verticalmente a la descendencia. La enfermedad puede evitarse con una vacuna procedente de pavos, y fue la primera vez que un cáncer pudo prevenirse por vacunación.

El tumor de Lucké es un adenocarcinoma renal de la rana común, *Rana pipiens*, producido por un herpesvirus. Las células tumorales procedentes de ranas en invernación (4-9 °C) poseen cuerpos de inclusión intranucleares y partículas víricas, lo cual no sucede si las ranas son mantenidas a temperatura ambiente.

El genoma vírico parece que se encontraría reprimido en la rana, a las temperaturas del verano, pero sería desreprimido a baja temperatura. Las células tumorales de ranas en invernación producen, cuando se inyectan en renacuajos, adenocarcinomas renales de aparición tardía, cuando la rana es ya adulta.

VIRUS ADN Y CANCER HUMANO

Papovavirus

Los tumores humanos integrantes del grupo papiloma pueden ser benignos (verrugas comunes) o benignos con tendencia a la malignización (verrugas genitales o condilomas acuminados). Los virus de papiloma tipo 1 al 4 se han aislado de verrugas comunes, el 5, de la epidermodisplasia *verruciformes* y el 6 se encuentra asociado a los condilomas acuminados. Estos cuadros que aparecen en la vagina o pene son tumores de crecimiento rápido y están formados por células cuyos núcleos poseen inclusiones de ADN vírico, si bien no ha podido cultivarse *in vitro* ninguno de los virus de papilomas humanos.

El virus BK se aisló de la orina de un sujeto sometido a inmunoterapia supresora para recibir un trasplante renal y posteriormente de otros enfermos inmunodeprimidos artificial o naturalmente (síndrome de Wiskott-Aldrich). El 75-90 % de los adultos sanos poseen anticuerpos anti-BK (tipo HIA), lo que sugiere que la primoinfección tiene lugar en la infancia.

El virus JC se ha aislado (por inmunofluorescencia) a partir de cerebro de enfermos de una infección lenta del sistema nervioso, la leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP), pero los estudios serológicos han demostrado también la primoinfección generalizada en las poblaciones. Además, en pacientes con LMP se ha aislado también el virus SV40-LMP, cuyo antígeno T es diferente al producido por el virus SV40 simio.

Los tres virus, BK, JC y SV40, son antigénicamente distintos y oncógenos *in vivo* e *in vitro* para el hámster recién nacido o sus células, respectivamente, y puede comprobarse la presencia de los antígenos *T* y *TST*. El virus JC da lugar a tumores cerebrales, tipo glioma, a los 6 meses de su inoculación intracerebral al hámster, y puede transformar células cerebrales fetales humanas en los cultivos.

Los tests serológicos en pacientes con neoplasias para la búsqueda de anticuerpos frente a antígenos tumorales, tipo *T* o *TST*, de virus SV40, como las de adenovirus, han dado resultados negativos. Pero en los cánceres gastrointestinales se ha encontrado un antígeno, ausente normalmente en los adultos, pero presente en las células embrionarias del epitelio digestivo. Este antígeno, denominado carcinoembrionario (CEA), se ha detectado en dichos enfermos mediante sueros preparados en cabras o conejos. La producción de dicho antígeno se realizaría por un mecanismo de desrepresión genética, y su naturaleza exacta no se conoce.

Otros marcadores tumorales en el hombre, poseen gran valor en el diagnóstico precoz, control de la eficacia terapéutica y aparición de metástasis. Así se encuentran la fosfatasa ácida sérica (cáncer de próstata), hormona gonadotrófica (tumores trofoblásticos), fosfohexosaisomerasa (carcinoma mamario), alfa-fetoproteína (cáncer hepático y tumores de células germinales), antígeno pancreático oncofetal (cáncer de páncreas), calcitonina (carcinoma medular de tiroides), enolasa (apudomas), proteína S100 (melanomas), etc.

Adenovirus

Los adenovirus humanos implicados como productores de neoplasias, al ser inoculados en hámsters, ratones o ratas

recién nacidos, se han dividido en altamente oncógenos (serotipos 12, 18 y 31; subgrupo IV, con G + C de 48-49 %) y débilmente oncógenos (serotipos 3, 7, 11, 14, 16 y 21; subgrupo I, G + C de 50-52 %). Otros adenovirus poseen G + C de 55 a 61 % y no son oncógenos. Los serotipos altamente oncógenos poseen un contenido de G + C similar al de los papovavirus y al ADN celular.

Los tumores por estos virus no poseen viriones infecciosos y la inducción de la neoplasia o la transformación celular son variables en el tiempo, pero siempre de larga duración. Aparecen sarcomas indiferenciados o linfosarcomas (adenovirus tipo 7), y pueden demostrarse anticuerpos circulantes frente al antígeno *T*. En enfermos con diferentes neoplasias no han podido detectarse virus ni antígeno *T* ni ARN mensajero específico de adenovirus.

En células de riñón de mono, los adenovirus humanos son defectivos, es decir, inducen la producción de antígenos T, pero no del V. Pero si se añade virus SV40, se producen gran cantidad de adenovirus infecciosos. Realizando este estudio con el serotipo 7, se comprobó la aparición de la síntesis de antígenos SV40 y adenovirus 7, y los tumores inducidos en hámster dieron lugar a la aparición de antígenos *T* y *TST* de ambos virus. Pero al estudiar las partículas, se comprobó que junto al adenovirus 7, aparecía un *híbrido* constituido por el genoma SV40 y la envoltura proteica del adeno-7. Este híbrido, llamado PARA (particle aiding replication adenovirus), ha permitido múltiples estudios genéticos y tumorales, que han llevado a un mejor conocimiento de las interrelaciones víricas y los mecanismos de oncogénesis vírica.

Poxvirus

El *molluscum contagiosum* es un proceso crónico proliferativo benigno, que aparece en la piel de los niños y adultos jóvenes. Da lesiones pequeñas, blancas e indoloras. La lesión muestra histopatológicamente un cuerpo de inclusión grande y único, formado por partículas víricas, similares a cualquier poxvirus. El virus se ha transmitido experimentalmente al hombre, y se han infectado células de línea HeLa.

Herpesvirus

Los herpesvirus relacionados con tumores humanos se recogen en la tabla 68-2. Tres grupos de herpesvirus se encuentran involucrados.

Virus del herpes simple (VHS)

La relación entre el VHS-2 y el cáncer del cuello uterino parece hoy día clara. El VHS-1 y las neoplasias de labio, cabeza y cuello también parecen relacionados, aunque las pruebas sean menores.

La relación entre VHS-2 y el cáncer de cérvix se ha investigado por dos vías:

Estudios seroepidemiológicos. Los anticuerpos específicos contra VHS-2 son más numerosos y más frecuentes en las mujeres con dicho cáncer que en el resto de la población

Tabla 68-2. Enfermedades tumorales asociadas a herpesvirus en el hombre

Virus del *herpes-simple* 1	Cánceres de cabeza y cuello
Virus del *herpes-simple* 2	Cánceres de cuello de útero y vulva
Virus de Epstein-Barr	Linfoma de Burkitt
	Carcinoma nasofaríngeo
Citomegalovirus	Sarcoma de Kaposi
	Adenocarcinoma de colon
	Adenocarcinoma de próstata

(98 frente a 50-55 %). Los anticuerpos frente a antígenos no estructurales inducidos por el virus son también más abundantes en dichas pacientes. Mujeres con displasias cervicales y carcinoma *in situ*, que sabemos que constituyen lesiones de alto riesgo neoplásico, tienen también títulos de anticuerpos anti-VHS-2 en alta proporción. En las prostitutas, que adquieren más fácilmente la infección venérea por este virus, aparecen con mucha más frecuencia la enfermedad y los anticuerpos frente a aquél.

Estudios virológicos. El VHS-2 y también el VHS-1 son capaces de transformar, tras irradiación ultravioleta, fibroblastos embrionarios del hámster y humanos, y se presentan pequeños fragmentos del ADN vírico en las células transformadas. Algunos autores han conseguido por técnicas de hibridación demostrar secuencias de ADN vírico en células procedentes de cánceres de cuello de útero. Mediante un suero frente a los antígenos tumorales del VHS-2 se ha buscado la presencia de éstos en las células tumorales con técnicas de inmunomicroscopia electrónica y se han encontrado en el 75 % de los casos.

A pesar de la gran cantidad de estudios acerca de la capacidad neoplásica de los virus VHS, no se ha demostrado aún claramente su papel en las neoplasias humanas.

Virus de Epstein-Barr

Este virus (VEB) es el productor de la mononucleosis infecciosa y está claramente relacionado con el linfoma de Burkitt (donde se descubrió en 1964) y el carcinoma nasofaríngeo humano (v. cap. 56).

El VEB causa una infección productiva en las células linfoides. El virus se localiza en los linfocitos B, en cuya superficie existen receptores específicos y en cuyo interior pueden demostrarse de 50 a 100 copias del genoma vírico. En los niños y adultos, la infección, sintomática o no, causa una seroconversión; los virus se eliminan por la orofaringe, quizás a partir de los linfocitos del anillo de Waldeyer o de las células epiteliales de las glándulas salivales. A partir de linfocitos B infectados por el VEB se pueden establecer líneas celulares *in vitro*, lo cual no es posible en los linfocitos no infectados. Linfocitos B normales infectados con VEB procedentes de personas con mononucleosis infecciosa son indistinguibles de las células del linfoma de Burkitt. Este tumor se localiza en la cara y cuello de los niños que viven en ciertas áreas endémicas de Africa, Nueva Guinea y América del Sur; crece con rapidez, altera profundamente la cara del niño y metastatiza en diversas vísceras. Es muy sensible a la quimioterapia con ciclofosfamida o vincristina.

El VEB es la causa del tumor, lo que se demuestra por los siguientes datos:

1. El genoma vírico se aísla en el 90 % de las células del linfoma; VEB se ha identificado en los leucocitos periféricos y es capaz de transformar *in vitro* los fibroblastos humanos y los leucocitos humanos y de primates. En estas células transformadas también se encuentran el genoma vírico, el antígeno nuclear del virión, antígeno del cápside y antígeno de membrana. La inyección de las células transformadas en diversas especies de monos les produce neoplasias malignas.

2. Los anticuerpos anti-VEB se encuentran en más del 80 % de los enfermos con linfoma: anticuerpos frente al cápside, al núcleo y a los antígenos precoces. Estos últimos se forman en la fase aguda de la enfermedad, mucho antes que los otros dos, y son los primeros en desaparecer, mientras que aquéllos perduran muchos años; por esto, tienen gran importancia diagnóstica.

3. En los leucocitos de los pacientes con linfoma de Burkitt se ha detectado una traslocación 8/14, que da lugar a una proliferación monoclonal de los linfocitos B. Esto se debería a la existencia de un protooncogene en el cromosoma 8, que llevaría la información al cromosoma 14, el cual contiene los genes de formación de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (v. «Teorías de la oncogénesis vírica»).

El carcinoma nasofaríngeo (epitelioma anaplásico con gran infiltración linfocitaria) presenta características etiológicas similares al linfoma de Burkitt. Se ha aislado el genoma del VEB en las células cancerosas epiteliales, y los títulos de anticuerpos frente a aquél son más altos y se hallan más a menudo que en otros tumores o personas sanas. Este tumor aparece en adultos de ciertos grupos étnicos del sudeste de China, aunque ya se ha descrito en Africa y otras zonas del mundo. La demostración de IgA séricas frente al VEB se ha utilizado con éxito para detectar individuos propensos a desarrollar carcinoma nasofaríngeo o en fases muy precoces de éste.

La relación entre estos tumores y las diversas áreas geográficas se ha intentado explicar por tres vías: para unos autores se trataría de que en ellas hay cepas de virus transformantes, diferentes a las cepas no transformantes que se encuentran en áreas con cuadros de mononucleosis infecciosa. Otra explicación se basaría en fenómenos ambientales, ya que el linfoma de Burkitt aparece en las zonas palúdicas; se ha sugerido que el paludismo causaría una inmunodepresión favorecedora de la aparición del linfoma; otros autores consideran que la cloroquina sería la que induciría el cuadro. Por último, el carcinoma nasofaríngeo se produce en grupos étnicos con determinados HLA, lo que sugiere factores genéticos predisponentes.

La aparición de virus ARN (retrovirus y paramixovirus) y anticuerpos frente a ellos en enfermos con linfoma de Burkitt y carcinoma nasofaríngeo sugiere la posibilidad de la interacción del VEB con otros agentes víricos.

Citomegalovirus

Diversos citomegalovirus humanos han demostrado *in vitro* la capacidad de transformar células humanas y de hámster; antígenos víricos se han encontrado en células cancerosas, por ejemplo, de cáncer de próstata. Se desconoce el papel que puedan desempeñar estos virus.

Otros virus

Hoy día existen pruebas claras de la relación entre el virus de la hepatitis B (HBV) y el carcinoma hepatocelular primario (CH). Estas pruebas se apoyan en múltiples estudios de carácter epidemiológico y virológico. El CH ocurre con más frecuencia en las regiones con mayor número de portadores crónicos de HBV y, además, más del 90 % de los pacientes con dicho cáncer presentan títulos altos de HB_sAg y HB_cAc (v. cap. 66). Estos hechos se han demostrado en regiones tan dispares como Mozambique y Estados Unidos. Además, se ha comprobado, en estudios prospectivos a lo largo de muchos años, que los sujetos HB_sAg-positivos poseen un riesgo mucho mayor de padecer el cáncer de hígado que los HB_sAg-negativos.

Desde el punto de vista virológico y mediante tinciones histoquímicas, inmunoperoxidasas y reacciones de fluorescencia directa se ha comprobado la presencia de proteínas del HBV en el tejido neoplásico hepático. Además, en una línea celular obtenida de un cultivo de CH (PLC/PRF/S), se ha demostrado que las células sintetizan HB_sAg, subtipo *ad* en forma de partículas de 22 nm; dichas células poseen de 3 a 6 copias de ADN del HBV integrado en su genoma. ADN vírico integrado en el genoma de las células tumorales se ha encontrado también en tejido neoplásico obtenido por punciones biópsicas del hígado de pacientes con CH. Estudios posteriores han comprobado que la integración del ADN precede en meses o años al desarrollo del cáncer.

Aunque no se ha demostrado que el HBV lleve a la transformación celular, el hecho de haber encontrado un solo patrón de integración y los datos epidemiológicos antes citados apoyan fuertemente la hipótesis de que, en la mayoría de los casos, la infección por HBV se requiere para la aparición del CH. Incluso en sujetos alcohólicos con CH, con o sin HB_sAg circulante, se ha comprobado que poseen el ADN integrado al genoma celular. Estos hechos han llevado a considerar que la vacuna antihepática B puede ser un mecanismo muy útil de prevención del carcinoma hepatocelular.

En la enfermedad de Hodgkin se ha observado que los linfocitos de los pacientes presentan alteraciones similares a las producidas por los virus del herpes, y se ha considerado que la transformación celular podría deberse a virus de ese tipo, solos o asociados con partículas ARN.

RETROVIRUS

La familia *Retroviridae* se halla compuesta de virus ampliamente difundidos en la naturaleza. Miembros de esta familia se han aislado a partir de diversas especies de vertebrados e invertebrados, siendo su principal característica la capacidad de inducir procesos neoplásicos en los animales y posiblemente en el hombre (HTLV I).

Sin embargo, y a pesar de que todos los virus ARN oncógenos son miembros de la familia *Retroviridae*, no todos los

Tabla 68-3. Principales agentes víricos de la familia Retroviridae

Subfamilia Oncovirinae	
Oncovirus tipo C	
Complejo murino:	Virus de la leucemia murina
	Virus del sarcoma murino
	Virus endógenos murinos
Complejo felino:	Virus de la leucemia felina
	Virus del sarcoma felino
	Virus endógenos felinos
Complejo primate:	Virus de la leucemia simia
	Virus del sarcoma simio
	Virus del cáncer mamario simio
	Virus de la leucemia humana de células T
Complejo hámster:	Virus de la leucemia del hámster
	Virus del sarcoma del hámster
Complejo aviar:	Virus de la leucemia aviar
	Virus del sarcoma aviar
	Virus de la reticuloendoteliosis aviar
	Virus endógenos aviares
Otros:	Virus de la leucemia bovina
	Virus porcinos
	Virus de las serpientes
	Virus de las ratas
	Virus de los cobayos
Oncovirus tipo B:	Virus del cáncer mamario murino
Oncovirus tipo D:	Virus de Mason-Pfizer
	Virus del cáncer mamario simio
Subfamilia Spumavirinae	
Subfamilia Lentivirnae	¿Virus linfotrópico de células T humanas tipo III (VIH)?
	Visna-maedi
	Artritis caprina con encefalomielitis
	Anemia infecciosa equina
	STL V/III

retrovirus son oncógenos e incluso ni tan siquiera patógenos.

Al contrario de la mayoría de virus que poseen una acción citotóxica, los retrovirus establecen una infección crónica en la célula huésped susceptible al integrar su genoma en el ADN celular, proceso catalizado por una ADN-polimerasa o transcriptasa inversa, característica que da el nombre a esta familia y que, descubierta en 1970 por Temin y Baltimore, actuaría por un mecanismo antes citado.

La familia *Retroviridae* se divide en tres subfamilias (tabla 68-3):

Spumavirinae (*spuma* = espumoso).
Lentivirinae (*lente* = lento).
Oncovirinae (*onco* = tumor).

Los spumavirus se comportan generalmente como contaminantes de los cultivos celulares primarios, donde dan lugar a una característica degeneración celular espumosa. Se han hallado en diversas especies de mamíferos (felinos, bovinos, primates y humanos) y pueden ser causa de infección persistente, a pesar de no hallarse asociados a ninguna entidad patológica específica.

Los lentivirus mejor caracterizados en la actualidad son los virus visna y maedi, causa de afección neurológica progresiva y neumonía crónica, respectivamente, en las ovejas tras un prolongado período de latencia. Otros virus afines, pertenecientes a la misma familia, se han aislado en cabras y ovejas (cap. 67).

Los oncovirus se clasifican atendiendo a las variaciones morfológicas existentes al microscopio electrónico entre las partículas retrovíricas y según sea el huésped natural. Se han descrito 4 tipos morfológicos de partícula retrovírica, A, B, C y D. La mayoría de oncovirus pertenecen al tipo morfológico C, que se forma por gemación a través de la membrana citoplástica celular. La partícula extracelular madura es de 80-110 μm de diámetro con core central electrodenso. La partícula morfológica tipo B, de 125 μm de diámetro, posee un core excéntrico electrodenso y al igual que la anterior es extracelular y se forma por gemación. La partícula morfológica tipo D, a pesar de hallarse relacionada bioquímica y serológicamente a la tipo B, posee una morfología tipo C con core central electrodenso. Los retrovirus tipo A, a diferencia de los anteriores, son intracelulares, carecen de cubierta lipídica y de poder infectivo, y actúan como precursores de las partículas víricas tipos B y D.

MORFOLOGIA

Al microscopio electrónico, los retrovirus, cuyo esquema se recoge en la figura 68-2, aparecen morfológicamente como partículas esféricas, de 100 μm de diámetro, con una superficie compuesta de una doble capa lipídica o envoltura adquirida a partir de la célula huésped completamente rodeada de prominencias, que constituyen la glicoproteína mayor de envoltura, de 41-85 kdaltons de peso molecular según su procedencia aviar o de mamíferos. Dicha glicoproteína es responsable de la producción de anticuerpos neutralizantes y se halla unida por puentes disulfuro a la glicoproteína menor de envoltura, de 37 kdaltons de PM, claramente reconocida por microscopia electrónica en las partículas aviares, mientras que en las de mamíferos prácticamente toda la molécula se halla en el interior de la capa externa, siendo difícil de visualizar. Un tercer componente de envoltura se halla constituido por un polipéptido de 10-12 kdaltons de PM, que representa la porción de gp37 que se halla en el interior de la bicapa de lípidos. Las glicoproteínas de superficie, además de poseer determinantes tipo y

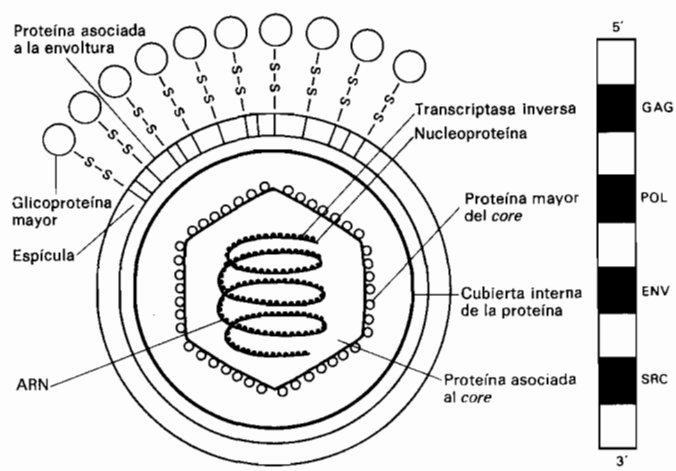


Fig. 68-2. Esquema de un retrovirus, partícula C. A la derecha, secuencia del genoma del ARN vírico (explicación en el texto).

grupoespecíficos, frecuentemente poseen determinantes de especificidad.

Por debajo de la envoltura se halla íntimamente unida a ésta la membrana interna constituida por un polipéptido de 12-19 kdaltons de PM.

La envoltura y la membrana interna rodean una zona central electrodensa, nucleoide o core, compuesta de un cápside de simetría icosaédrica, que engloba el ARN monocatenario vírico. El polipéptido principal de 24-30 kdaltons de PM constituye la proteína mayor de core, grupoespecífica y principal constituyente de cápside. Las proteínas menores, tipoespecíficas, son de 15 y 10 kdaltons de PM.

La partícula retrovírica posee de 10 a 440 moléculas de transcriptasa inversa (60-80 kdaltons de PM), responsable de tres actividades enzimáticas necesarias para la replicación vírica: la actividad ADN-polimerasa, la actividad ARNasa H y la actividad endonucleasa. Las actividades enzimáticas ADN-polimerasa y ARNasa H son necesarias para la síntesis del ADN vírico libre, mientras que la actividad endonucleasa es requerida en la integración de éste en el genoma celular.

ESTRUCTURA Y REPLICACION

La información genética vírica se halla contenida en un ARN monocatenario de coeficiente de sedimentación 70S, de alto peso molecular y compuesto de dos subunidades idénticas de 35S, unidas entre sí por enlaces hidrógeno a nivel de los finales 5'.

Los retrovirus poseen una estructura y organización genética simple. Sin embargo, presentan variaciones en el tipo y número de genes que poseen, hecho de gran importancia en la clasificación y biología de esta familia. Dichos genes pueden ser clasificados en dos categorías:

1. Genes necesarios para la replicación vírica:

a) El gen *gag* que codifica las proteínas estructurales de core.

b) El gen *pol* codificador de la ADN-polimerasa vírica o transcriptasa inversa.

c) El gen *env* responsable de la codificación de las glicoproteínas de superficie.

2. Genes que determinan el potencial oncógeno del virus u oncogenes, no necesarios para la replicación: los oncogenes fueron descritos por primera vez en los trabajos realizados con el virus del sarcoma aviar de Rous (RSV). El análisis molecular del genoma vírico demostró que se hallaba compuesto de un área representada por los genes *gag*, *pol* y *env*, así como de una segunda área con un único gen u oncogén, responsable de la transformación celular, denominado src, codificador de una fosfoproteína (pp60src), cuya actividad quinasa era la responsable de la alteración del fenotipo celular. En la actualidad se hallan descritos 21 oncogenes retrovíricos. Al contrario del resto de genes víricos estudiados hasta entonces, el gen *src* del RSV no era de origen vírico. Trabajos de hibridación de ácidos nucleicos demostraron definitivamente que los oncogenes retrovíricos (v-*onc*) derivan de secuencias progenitoras de ADN presentes en las células normales (c-onc o protooncogén), siendo evidente que el virus adquiere dicho gen celular al integrarlo en su propio genoma. Los oncogenes celulares se hallan extraordinariamente distribuidos entre los animales, no sólo en los vertebrados, sino que también se han detectado en metazoos (presencia del gen *src* en *Drosophila melanogaster*), indicando que dichos genes han sobrevivido durante millones de años y presentado una extraordinaria estabilidad evolutiva probablemente debido a ser necesarios en funciones celulares vitales desconocidas en la actualidad. Existen pruebas sólidas de que la detección de oncogenes a través de los retrovirus fue un hecho casual en el sentido de que dichos genes existen y son capaces de transformar células independientemente de los retrovirus. Así, el ADN a partir de células fibroblásticas normales y transformadas químicamente y a partir de tumores humanos no asociados a retrovirus es capaz, en estudios de transfección, de transformar células en cultivo (línea NIH/3T3, fibroblastos de ratón).

A partir de estos estudios puede deducirse que los oncogenes poseen capacidad de expresarse independientemente de los retrovirus y que éstos actuarían como vectores para la transducción de los oncogenes celulares. Así, estos genes representan una vía patológica final común para la carcinogénesis con diferentes agentes carcinogénicos.

El genoma retrovírico, además, posee regiones no codificadoras necesarias para su replicación:

La región R compuesta de 20 a 80 nucleótidos y que se halla repetida a ambos extremos del genoma.

Las regiones U5 y U3.

Las regiones LTR (largo terminal de repetición), necesarias para la integración del ADN vírico, formadas a partir de las dos anteriores regiones no codificadoras, al ser duplicadas durante el proceso de replicación vírica.

El mecanismo de replicación de los retrovirus puede dividirse en 5 fases:

1. Primera fase o de infección. A pesar del escaso conocimiento de esta fase, tanto la adsorción como la penetración del virus son mediadas por una interacción específica ente las proteínas víricas de envoltura y los receptores celulares de superficie.

2. Segunda fase o de síntesis de ADN viral libre (figura 68-3). En esta fase se produce la conversión del ARN vírico en una doble cadena lineal de ADN, proceso que tiene lugar en el citoplasma celular, requiere un tiempo mínimo de 4 horas y es catalizado por la transcriptasa inversa. La síntesis del ADN monocatenario de polaridad negativa empieza a partir de la unión de un ARN de transferencia a la región tb (–), situada en el final izquierdo del genoma vírico, que presenta una secuencia complementaria de 16-19 nucleótidos a la presente en el final 3' del ARNt. En una primera etapa se crean secuencias complementarias a las regiones U5 y R del ARN vírico hasta alcanzar el final 5' del genoma, donde debido a la ausencia de templete cesa la síntesis, que para poder ser continuada debe producirse un «salto» del final 5' del genoma al 3', paso facilitado por la secuencia de nucleótidos de las regiones R repetidas a ambos extremos del ARN vírico y gracias a la actividad ARNasa de la transcriptasa inversa, que degrada la región R del final 5', permitiendo que la recientemente formada secuencia de ADN complementaria a dicha región se una a la región R homóloga

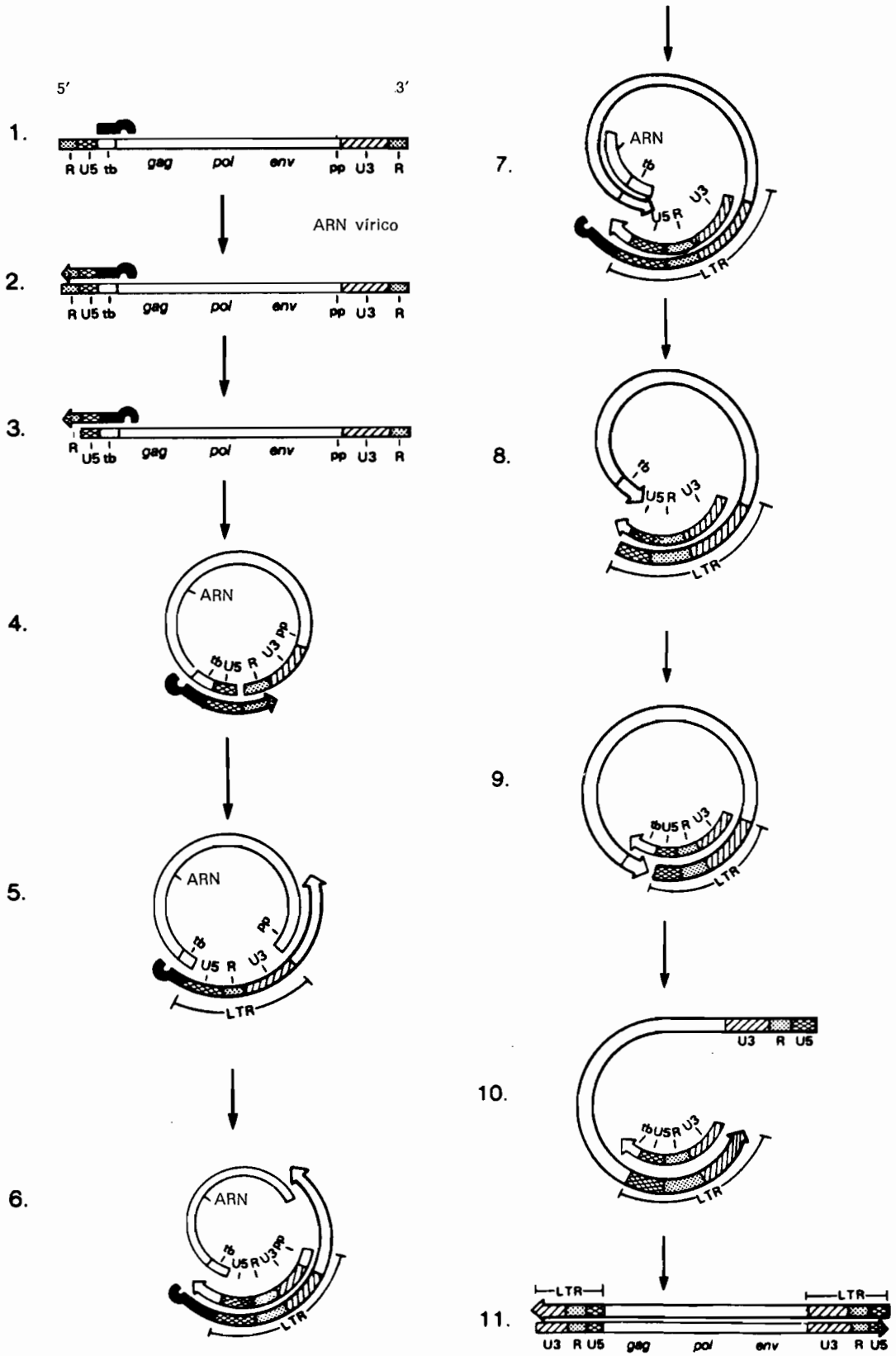


Fig. 68-3. Mecanismo de replicación de los retrovirus. (Tomado de Lowy, F. D. En Fields, B. N.: Virology. Raven Press, New York, 1985.)

del final 3'. En una segunda etapa, la síntesis del ADN monocatenario de polaridad negativa continúa a partir del final 5' del ARN vírico, dando lugar a la formación del LTR del futuro ADN bicatenario, a la vez que la transcriptasa inversa continúa degradando el ARN del híbrido ADN-ARN formado. Una vez sintetizada la secuencia de nucleótidos de la región U3, la síntesis del ADN continúa extendiéndose de derecha a izquierda y finalizando tras copiar los 18 nucleótidos presentes en el lugar de unión del ARNt. En una tercera etapa, la síntesis de ADN requiere la presencia de transcriptasa inversa para cambiar de templete por segunda vez y utilizar un ADN monocatenario de polaridad positiva previamente formado. Este segundo «salto» es facilitado por una secuencia de 18 nucleótidos, presentes en el templado, complementaria a la presente en el lugar de unión del ARNt, formándose de este modo el LTR izquierdo del ADN monocatenario de polaridad negativa. El resto de la cadena de polaridad positiva se sintetiza en dirección izquierda-derecha, dando lugar al ADN bicatenario lineal completo con un LTR a ambos extremos.

3. Tercera fase o de integración del ADN vírico. Las moléculas de ADN lineal libre son las precursoras del ADN vírico integrado o provirus. A pesar de que el proceso de integración no es bien conocido, es necesaria la presencia de un LTR a ambos finales de ADN, la actividad endonucleasa de la transcriptasa inversa y ciertas funciones codificadas por la célula huésped. La integración se realiza en el mismo orden presente en el ADN vírico libre (LTR-*gag-pol-env*-LTR) y en cualquier lugar del genoma celular. Una vez integrado, el provirus es replicado y distribuido por igual, junto con el ADN celular, a las células hijas. Las primeras copias integradas pueden detectarse a las 8 horas después de la infección, siendo necesarios 3 días para la integración de la mayoría de ADN. Un número de copias de ADN lineal libre adquieren, en el núcleo celular, una disposición circular no integrada, desconociéndose si estas moléculas de ADN actúan como precursoras del ADN vírico integrado.

4. Cuarta fase o de expresión del ADN vírico. En las células crónicamente infectadas, la transcripción del ARN vírico se produce a partir del provirus. El ADN vírico no integrado puede expresarse, a pesar de ser necesaria la integración para su perpetuación; así, dicho ADN circular posee poder infeccioso, aunque menor al de las formas integradas. El provirus representa una unidad transcripcional que contiene sus propias secuencias reguladoras. Sin embargo, su expresión depende tanto de factores específicos del huésped como del virus. Estos incluyen el lugar de integración en el ADN celular, las regiones LTR del provirus y enzimas codificadas por la célula huésped. El provirus es transcrito gracias a una ARN-polimerasa tipo II celular en dos subunidades de ARN que actuarán como ARNm en la síntesis de las proteínas estructurales, a la vez de unirse por puentes hidrógenos a nivel de los finales 5' y dar lugar al ARN vírico.

5. Quinta fase o de síntesis proteica y formación de la partícula vírica: Las proteínas estructurales codificadas por los genes *gag*, *pol* y *env* engloban las subunidades de ARN vírico, dando lugar a la partícula vírica que adquiere la envoltura al abandonar la célula huésped por gemación a través de la membrana citoplásmica.

La gran mayoría de retrovirus poseen los genes *gag*, *pol* y *env* completos y no contienen oncogenes; por lo tanto, poseen una replicación eficiente y son incapaces de transformar las células en cultivo. Sin embargo, existen variantes que poseen genes defectivos capaces de replicarse y transmitirse en presencia de un virus homólogo no defectivo (*helper*), proceso denominado de «rescate». En caso contrario, el genoma vírico defectivo es capaz de expresarse, pero no de transmitirse. Así, la integridad de los genes *gag*, *pol* y *env* no es necesaria para la expresión del provirus.

El genoma de la mayoría de retrovirus portadores de oncogén es defectivo; así, es necesaria la presencia de un virus no defectivo (*helper*) para su replicación. La única excepción son algunas cepas de RSV, que adicionalmente al oncogén poseen un genoma completo. Es importante destacar que los finales 5' y 3' de los virus defectivos son homólogos a los del virus *helper* con el que se aislaron originariamente.

ESPECIFICIDAD DE HUESPED Y MECANISMO DE TRANSMISION

La mayoría de retrovirus presentan un alto grado de especificidad respecto al huésped susceptible de infección. Se han descrito tres posibles mecanismos responsables de dicha especificidad: *a)* la ausencia de adecuados receptores de superficie necesarios para la penetración vírica; *b)* la imposibilidad de persistencia después de la penetración y la transcripción inversa (infección abortiva), y *c)* la incapacidad de formar viriones infecciosos tras la expresión del ADN vírico integrado (infección no permisiva). Dependiendo de la restricción en los receptores de superficie, los retrovirus pueden clasificarse en:

Ecotrópicos. Capaces de replicarse únicamente en las células del huésped natural.

Xenotrópicos. Se replican únicamente en especies diferentes a la del huésped.

Anfotrópicos. Pueden replicarse tanto en células homólogas como heterólogas.

Atendiendo al mecanismo de transmisión, los retrovirus se dividen en endógenos y exógenos.

Los retrovirus endógenos se hallan integrados en el ADN de la célula huésped, transmitiéndose de forma vertical de célula madre a hija siguiendo las leyes de Mendel. La expresión del provirus da lugar a partículas retrovíricas infecciosas, generalmente no patógenas para el huésped. Los virus endógenos pueden comportarse de forma ecotrópica o xenotrópica.

Los retrovirus exógenos se transmiten horizontalmente a modo de agentes infecciosos, comportándose generalmente como virus ecotrópicos o anfotrópicos.

PATOGENIA

Los retrovirus producen diversas enfermedades en el huésped *in vivo*, a la vez que pueden transformar las células en cultivo alterando sus características de morfología y crecimiento. Algunos ejemplos de afectación no tumoral son: anemia infecciosa de los caballos; artritis de las cabras; parálisis en los ratones salvajes, y, más recientemente, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en el hombre.

Sin embargo, la principal característica de la familia *Retroviridae* es la propiedad que presentan algunos de sus miembros de producir procesos neoplásicos en varias especies de animales y de transformar células en cultivo.

Según el mecanismo de transformación celular, los retrovirus pueden clasificarse en:

Virus en los que debido a la existencia de un gen adicional u oncogén en su genoma presentan un elevado potencial oncógeno, siendo capaces de transformar las células en cultivo e inducir tumores en los animales de experimentación en un corto período de tiempo.

Virus no poseedores de oncogén, que por mecanismos todavía desconocidos inducen tumores en los animales de experimentación tras un prolongado período de latencia y no son capaces de transformar las células en cultivo.

Estos últimos no poseen un oncogén en su genoma, estando todavía por definir el mecanismo de transformación celular utilizado. En el caso del virus de la leucemia aviar, se ha sugerido que, tras varios ciclos de replicación e infección de las células adyacentes, el ADN vírico se integraría por azar en las proximidades del protooncogén c-myc, responsable de la transformación celular al ser activado.

RETROVIRUS HUMANOS

Los últimos 5-6 años han sido testigos de la aparición de un nuevo capítulo en retrovirología, el descubrimiento, aislamiento y caracterización de un grupo de retrovirus linfotrópicos (HTLV) asociados a diferentes afecciones de las células T humanas. Las dificultades obtenidas en el aislamiento de retrovirus a partir de tejidos humanos se hallaba en contraste con algunos sistemas animales, en los que era relativamente sencillo su aislamiento. Sin embargo, las leucemias humanas no se hallan asociadas a viremia y sólo tras cultivar adecuadamente las células leucémicas se es capaz de aislar el virus a partir de muestras humanas.

Los primeros aislamientos de retrovirus humanos fueron el resultado de una serie de descubrimientos en el campo de la bioquímica retrovírica y de la biología de las células T humanas. Inicialmente se produjo el descubrimiento de la transcriptasa inversa y la puesta a punto de técnicas para detectarla y diferenciarla de las ADN-polimerasas celulares normales. El segundo hecho de gran trascendencia fue el descubrimiento, por R. C. Gallo, de un factor de crecimiento de células T (TCGF) o interleukina 2 (IL2) en el medio de cultivo de linfocitos T estimulados con lectinas (concavalina A y fitohemaglutinina A). Estos hechos significaron el aislamiento del virus de la leucemia de células T del adulto tipo I (HTLV I) a partir de un paciente afecto de lo que entonces se creía una variante agresiva del síndrome de Sézary o micosis fungoide.

En la actualidad se han descrito 3 retrovirus humanos, HTLV I es el agente etiológico de la leucemia de células T del adulto, enfermedad endémica en Japón, el Caribe, América Central y del Sur, y Africa. HTLV II fue aislado a partir de un paciente afecto de tricoleucemia o leucemia de células peludas, aunque a pesar de ello todavía se halla por demostrar su asociación a patología humana. Más recientemente se ha identificado un tercer miembro de esta familia, virus linfotrópico de células T humanas tipo III (LAV/HTLV III), considerado como el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), caracterizado por infecciones oportunistas y/o síndrome de Kaposi como resultado de una severa inmunodepresión a consecuencia de una disminución en el número de linfocitos T activadores (OKT4 +). Además de las diferencias existentes entre sus espectros clínicos, es importante destacar que mientras HTLV I y II transforman los linfocitos en cultivo, LAV/HTLV III es altamente citopático causando la muerte celular en un corto período de tiempo. A pesar de ello, los tres virus poseen propiedades en común:

1. Retrovirus exógenos que presentan un marcado tropismo por los linfocitos T, en especial la subpoblación caracterizada por el fenotipo OKT4 + (linfocitos activadores, Th).
2. Inducen importantes cambios morfológicos y funcionales en los linfocitos T infectados, dando lugar a la formación de células gigantes multinucleadas, disminución de la función activadora (Th) y en ocasiones muerte celular (LAV/HTLV III).
3. La organización del genoma es similar, existiendo escasa homología en las secuencias de nucleótidos, que, sin embargo, es suficiente para codificar una transcriptasa inversa Mg++ dependiente similar en todos ellos, así como una proteína mayor del *core* (p24), de tamaño parecido (24.000 kdaltons de PM).

HTLV I, II Y LEUCEMIA HUMANA

Morfología y estructura

HTLV I y II poseen la morfología característica de las partículas retrovíricas tipo C (*core* central electrodenso), formándose por gemación a través de la membrana citoplásmica de la célula infectada. El tamaño de la partícula vírica completa oscila de 90-140 nm.

El genoma provírico de HTLV I y II, al igual que en el resto de retrovirus, posee los genes *gag*, *pol* y *env* y una región LTR a cada extremo del provirus. Una de las principales características de HTLV I y II es la presencia de un cuarto gen en su genoma, denominado *px*, región de aproximadamente 1,6 kb situada entre el terminal carboxilo del gen *env* y el LTR situado en el final 3'. Las 0,6 kb iniciales de este gen no son constantes y no poseen capacidad de transformación; sin embargo, las siguientes kilobases son altamente constantes y contienen una única secuencia con capacidad de ser transcrita, denominada «x-lor», que codifica una proteína de PM entre 40-45 kdaltons, que se expresa en todas las células transformadas por HTLV I, incluyendo aquellas células infectadas que no sintetizan partículas víricas completas o proteínas estructurales. El gen *px* no presenta homología con secuencias celulares de vertebrados; por lo tanto, no es un típico oncogén retrovírico.

El gen *gag* codifica 3 proteínas estructurales de *core* de 15, 19 y 24 kdaltons. La proteína mayor de core (p24) presenta reacciones inmunológicas cruzadas frecuentes entre HTLV I y II.

La transcriptasa inversa codificada por el gen *pol* es mayor a la enzima presente en el resto de retrovirus (100 kdaltons) y utiliza como cation divalente Mg++, en lugar de Mn++.

La glicoproteína de envoltura (gp61) se halla codificada por el gen *env* y se compone de dos glicoproteínas unidas por puentes disulfuro, una externa de 46 kdaltons y otra en el interior de doble capa lipídica de 21 kdaltons. Al igual que p24, la glicoproteína de envoltura gp61 presenta reacciones inmunológicas cruzadas entre HTLV I y II.

Transformación celular

A pesar de que los análisis del genoma completo de HTLV I y II no han demostrado la presencia de un oncogén, poseen ciertas propiedades afines a los retrovirus poseedores de oncogén en su genoma, como son la capacidad de transformar células *in vitro* en un período relativamente corto de tiempo (2-3 meses) y la ausencia, en ocasiones, de expresión vírica detectable de los genes *gag, pol* y *env*. Sin embargo, las células transformadas progresan hacia un carácter monoclonal típico de los virus productores de procesos tumorales crónicos (no poseedores de oncogén).

Generalmente, los linfocitos T infectados por HTLV I presentan receptores de superficie para el factor de crecimiento de células T (TCGF) sin necesidad de activación celular por lectinas (concavalina A y fitohemaglutinina H). A pesar de ello, gran cantidad de células T transformadas son incapaces de sintetizar TCGF; así, un modelo general de transformación celular basado en la autoestimulación de las células infectadas no es sostenible. Existe evidencia de que los receptores de TCGF en dichas células son cualitativamente diferentes a los existentes en los linfocitos T activados por lectinas. Hasta qué punto dicha alteración es capaz de crear un estado de activación permanente en ausencia de TCGF es desconocido.

Estudios de la acción promotora de los LTR de HTLV I y II en la transcripción vírica demostraron que la transcripción de un gen codificador de cloranfenicol-acetiltransferasa (CAT) unido a un LTR era muy superior en las células infectadas por HTLV I que en las no infectadas, indicando una activación de la transcripción por un mecanismo de «trans-activación» a través de una proteína vírica. Estudios de expresión de diferentes proteínas estructurales víricas en diferentes intervalos de tiempo después de la infección, así como de células transformadas conteniendo provirus defectivos, han descartado la posibilidad de que la expresión de *gas, pol* y *env* sea necesaria para la transformación celular. Estudios semejantes han llegado a la misma conclusión en relación a las primeras 600 bases del gen *px*. Así, el único candidato restante es la proteína codificada por la región *x-lor* del gen «px» (p42), sobre todo teniendo en cuenta el alto nivel de homología de este gen entre HTLV I y II.

Las células transformadas *in vitro* por dichos retrovirus expresan altos niveles de ARNm vírico, mientras que las células T presentes en la sangre periférica de los pacientes afectos de ATL poseen niveles bajos o nulos de ARNm, sugiriendo que las células transformadas *in vitro* se hallan en una etapa precoz de transformación y las obtenidas a partir de sangre periférica, en fases más tardías, de tal manera que la expresión del gen *px* sería necesaria para iniciar la transformación y no para mantenerla.

Así, se puede desarrollar una hipótesis compuesta de dos etapas en la transformación celular por HTLV I y II: una etapa precoz análoga a la observada en la transformación *in vitro*, que produce la inmortalización y gran aumento de la proliferación de las células infectadas, aumentando la posibilidad de mutaciones o variacions genéticas, de tal manera que en esta fase tardía el virus habría realizado su papel, no siendo ya necesario para la progresión de la enfermedad.

Clínica

En 1977, Uchiyama y cols. publicaron lo que parecía un síndrome linfoproliferativo de células T (ATL) de rápida evolución, que afectaba a los adultos del sudoeste del Japón. Los primeros casos se reconocieron en 1974 y se caracterizaron por adenopatía, esplenomegalia y afectación cutánea.

Dicho síndrome linfoproliferativo es fácilmente reconocible y prácticamente es el mismo en todas las áreas endémicas. Se caracteriza por la presencia de linfadenopatía generalizada, hepatomegalia, afectación cutánea y del SNC, lesiones líticas óseas acompañadas de hipercalcemia y una alta predisposición a sufrir infecciones oportunistas.

La aparición brusca de afección cutánea y linfadenopatía es generalmente el síntoma inicial, a pesar de no ser infrecuente una presentación con los signos derivados de la hipercalcemia: debilidad, letargia, confusión, poliuria y polidipsia. A la exploración física se hallan los ganglios linfáticos periféricos aumentados de tamaño. Las lesiones cutáneas se hallan en un 50 % de los pacientes, abarcando desde un eritema hasta la presencia de nódulos subcutáneos múltiples. Prurito y excoriaciones severas, que son signos predominantes en el síndrome de Sézary o micosis fungoide, son infrecuentes en los pacientes de ATL.

En todos los casos existe una afectación de medula ósea, que raras veces es difusa, siendo el hallazgo más común una infiltración en «parche».

También se ha descrito afectación del tracto gastrointestinal, ascitis, infiltrados pulmonares bilaterales con o sin afectación pleural, leptomeningitis linfomatosa y afectación hepática.

Una de las principales características de la enfermedad es la gran disposición de padecer infecciones oportunistas especialmente por *Pneumocistis carinii, Criptococcus neoformans* y citomegalovirus, que generalmente son causa de afección pulmonar.

Diagnóstico de laboratorio

Diagnóstico histológico. El diagnóstico inicial se realiza generalmente a través del examen histológico de una biopsia cutánea, caracterizado por la presencia de un importante infiltrado compuesto de linfocitos anormales.

En sangre periférica, es característica la presencia de células linfoides pleomórficas, identificadas por presencia cromatina nuclear densa, núcleo de contorno irregular multilobulado y citoplasma basófilo.

El análisis de los marcadores de superficie indica que las células malignas son linfocitos T maduros, caracterizados por un fenotipo T1, T3 y T11 positivo y T8 negativo, típico de los linfocitos T activadores.

La detección de los receptores de TCGF (Tac) en las células neoplásicas mediante anticuerpos monoclonales anti-tac es capaz de distinguir los linfocitos T transformados por HTLV I de aquellos presentes en otros procesos neoplásicos de células T.

Diagnóstico hematológico y bioquímico. El 60-100 % de pacientes presentan un número elevado de leucocitos con presencia de células pleomórficas en las extensiones obtenidas a partir de sangre periférica. La anemia y la trombocitopenia son moderadas, contrariamente al resto de leucemias agudas. Prácticamente, el 100 % de los pacientes presentan un aumento de las fosfatasas alcalinas y la lactodeshidrogenasa. El hallazgo de laboratorio más interesante es la hipercalcemia, que se considera debida a la estimulación del factor activador de los osteoclastos, que daría lugar a un aumento de la resorción ósea. Dicha hipótesis proviene del hallazgo de dicho factor en el sobrenadante de los cultivos de células neoplásicas obtenidas de pacientes afectos de ATL e hipercalcemia.

Diagnóstico virológico:

1. Recogida de muestra: la muestra clínica por excelencia se halla representada por los linfocitos T transformados de sangre, obtenidos a partir de sangre periférica heparinizada y sometida a un gradiente de Ficoll. También puede aislarse a partir de tejidos (ganglio linfático).
2. Examen directo: microscopia electrónica. Tejidos procedentes de ganglio linfático o el sedimento de linfocitos transformados en cultivo son fijados en 4 % de glutaraldehído, sometidos a una segunda fijación a las 24 horas en 1 % tetróxido de osmio, deshidratados en alcoholes, incluidos en un bloque de resina y cortados en secciones de 1 μm de espesor. La utilización del microscopio electrónico nos dará información sobre la morfología de las partículas víricas maduras, así como acerca del virus en las distintas etapas de desarrollo. Es posible realizar reacciones serológicas visibles al microscopio electrónico (microscopia inmunoelectrónica) utilizando anticuerpos específicos frente a las diferentes proteínas víricas, marcados con moléculas electrodensas como la ferritina.
3. Aislamiento: el aislamiento de HTLV I y II se realiza a partir del cultivo de los linfocitos de sangre periférica de los pacientes afectos de ATL, que son añadidos a un frasco de cultivo, que contiene 10 % de suero fetal de ternera inactivado por el calor en medio de RPMI 1640 y TCGF.
4. Identificación del virus aislado:

a) Microscopia electrónica.

b) Transcriptasa inversa: la presencia de transcriptasa inversa se detecta en el sedimento obtenido tras ultracentrifugación del sobrenadante de los cultivos celulares. Se utilizan homopolímeros sintéticos de ARN (poli rA) como templete o molde conteniendo una corta secuencia iniciadora de ADN (oligo dT). Como sustrato se utilizan desoxinucleótidos trifosfato (dTTP) marcados con isótopos radiactivos (3H), que en caso de presencia de transcriptasa inversa en la muestra serán incorporados al ADN formado. La reacción se realiza en presencia de Mg++ como catión divalente.

c) Proteínas víricas: la detección «*in situ*» de las proteínas víricas se realiza mediante técnicas de inmunofluorescencia, inmunoenzimáticas o *Western blotting*. En las dos primeras técnicas, anticuerpos monoclonales específicos frente a las proteínas estructurales del virus, ya sean monoclonales o el suero de pacientes seropositivos afectos de ATL, se enfrentan a células en cultivo previamente fijadas en un portaobjetos; seguidamente, un anticuerpo anti-IgG marcado con fluoresceína presenta una serie de ventajas como la no necesidad de un microscopio de fluorescencia y la obtención de preparaciones permanentes. La técnica de *Western blotting* consiste en transferir a un papel de nitrocelulosa las proteínas víricas tras separarlas en un gel de poliacrilamida (PAGE), para aplicar sucesivamente sobre dicho *blot* técnicas inmunoenzimáticas.

d) Detección de ácidos nucleicos: el ARN vírico se detecta utilizando hibridación *in situ* sobre células fijadas en portaobjetos utilizando un ADN complementario al ARN vírico generalmente marcado con tritio (3H), a pesar del actual incremento de los marcadores enzimáticos. La técnica de *Northern blotting* consiste en hibridar el ARN vírico previamente transferido a un papel de nitrocelulosa tras someterlo a un recorrido electroforético en un gel de formaldehído. Para la detección de ADN vírico se utiliza la técnica de *Southern blotting* donde se hibrida el ADN vírico previamente transferido a un papel nitrocelulosa tras cortarlo con enzimas de restricción y someterlo a un recorrido electroforético en un gel de agarosa.

Diagnóstico serológico. El método de elección para el diagnóstico de infección por HTLV I y II es la determinación de la presencia de anticuerpos específicos a las proteínas víricas estructurales en el suero de los pacientes. Las mejores técnicas de diagnóstico serológico son las basadas en la detección de anticuerpos específicos frente a las glicoproteínas víricas de superficie debido a su gran poder inmunógeno. Las técnicas utilizadas con mayor frecuencia son: inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa sobre células fijadas, *Western blotting* y ELISA.

Epidemiología

Distribución geográfica. La leucemia humana de células T fue descrita por primera vez a finales de los años 70 en el sudoeste del Japón, donde se hallaba localizada. Una enfermedad maligna de células T OKT4 + fue también descrita en Londres entre los inmigrantes negros procedentes del Caribe, demostrándose que la enfermedad era similar o idéntica a la descrita en el Japón. Al mismo tiempo, varios casos de procesos malignos similares al síndrome de Sézary o micosis fungoide fueron observados en el sudeste de Estados Unidos, principalmente entre la comunidad negra procedente del Caribe, demostrándose también ser idénticos a los anteriores.

La edad media de inicio de la enfermedad, al contrario del resto de procesos malignos de células T en el hombre, es de alrededor de los 40 años, aconteciendo a más temprana edad entre la población europeo-caribeña.

Seroepidemiología. Gallo y cols. realizaron un estudio seroepidemiológico utilizando sueros de pacientes afectos de diversos procesos malignos, así como de controles normales, demostrando la asociación etiológica de HTLV I y ATL. Los resultados fueron los siguientes:

Los sujetos normales y pacientes no afectos de leucemia de células T no presentaron anticuerpos frente a HTLV I.

En las zonas endémicas de ATL, la prevalencia de portadores asintomáticos de anticuerpos específicos entre a HTLV I fue significativamente mayor con respecto a áreas no endémicas.

La distribución de portadores de anticuerpos específicos fue superponible al patrón geográfico de ATL.

Las principales zonas endémicas se hallaban en el sudoeste del Japón y en el Caribe, habiéndose detectado casos esporádicos en Estados Unidos, Israel, América Central y del Sur, y Africa.

Mecanismo de transmisión. La fuente de infección se halla constituida por las células infectadas que pueden ser transmitidas por contacto sexual a través de los linfocitos presentes en el semen, jeringuillas contaminadas en la administración de drogas, intercambio maternofetal demostrado *in vitro* y posiblemente la lactancia.

La necesidad de un contacto íntimo para la transmisión de HTLV I y II viene sugerido por:

1. El segundo grupo con mayor prevalencia de anticuerpos específicos a HTLV I y II se halla formado por las familias de los pacientes afectos de ATL.
2. En el interior de la familia, la transmisión es de hombre a mujer y de madre a hijo.
3. La detección de anticuerpos en el personal de laboratorio en contacto con HTLV I y II es repetidamente negativa.
4. Se han detectado anticuerpos específicos en pacientes receptores de transfusión sanguínea, así como una alta incidencia en hemofílicos y drogadictos intravenosos.

Tratamiento

El tratamiento de los pacientes de ATL se basa principalmente en la instauración de terapia antitumoral (vincristina, ciclofosfamida y adriamicina) y paliativa de las múltiples complicaciones existentes (hipercalcemia, alteraciones neurológicas o infecciones oportunistas). A pesar de todo, el tratamiento suele ser infructuoso, con un promedio de vida de 2-6 meses.

En la actualidad no existe una terapia antivírica eficaz; sin embargo, existen grandes esperanzas fundadas en los intensos estudios que se están llevando a cabo en relación a la terapia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

HTLV II

Recientemente, tras el primer aislamiento del tipo II a partir de un paciente efecto de tricoleucemia, se han descrito dos nuevos aislamientos, el segundo a partir de un drogadicto intravenoso afecto de SIDA y el tercero de un hemofílico sin evidencia de SIDA. Sin embargo, la importancia clínica de este virus como agente etiológico de alguna enfermedad humana se halla todavía por determinar. Se desconocen áreas endémicas y no existen datos epidemiológicos.

VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) Y EL SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA (SIDA)

Introducción

La hipótesis de una posible etiología vírica del síndrome de inmunodeficiencia adquirida surgió a partir de los datos epidemiológicos obtenidos: posibilidad de transmisión sexual, asociación a transfusión sanguínea y a la administración de factor VIII de la coagulación previamente filtrado, distribución en grupos de población concretos y existentes de cierta homología del síndrome con los procesos ya conocidos de los virus de la leucemia de células T del adulto HTLV I y II (tropismo por los linfocitos T activadores, la actividad inmunosupresora *in vitro*, las infecciones oportunistas en los pacientes efectos de ATL y posible origen africano).

En 1983, el grupo de Luc Montaignier en el Instituto Pasteru de París, utilizando la metodología de aislamiento de HTLV I con ligeras modificaciones (adición de anti-alfa-interferón en el medio de cultivo), aislaron un retrovirus a partir de los linfocitos T de sangre periférica en un paciente afecto de linfadenopatía generalizada con riesgo de padecer el SIDA, que fue reconocido con un virus linfotrópico de células T y denominado «virus asociado a linfadenopatía» (LAV). Dos virus similares, «virus linfotrópico de células T humanas tipo III» (HTLV III) y «virus asociado al SIDA» (ARV), fueron aislados en 1984 por el grupo de Robert Gallo, en el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, y Jay y Levy, en la Universidad de California, respectivamente. Sin embargo, la asociación de estos aislamientos víricos al SIDA no pudo ser demostrada debido a la imposibilidad de producción vírica a gran escala para la obtención de reactivos específicos diagnósticos como consecuencia del marcado carácter citopático del virus. Así, en 1985, el grupo de R. Gallo, tras clonar una línea de linfocitos T transformados por HTLV I, consiguió desarrollar una línea celular permisiva para el virus (H9) con capacidad de producción vírica continua, lo que permitió la obtención de reactivos víricos purificados. Estudios del genoma de los tres aislamientos determinaron que, si bien presentaban ciertas diferencias, eran variantes de un mismo virus, cuya asociación etiológica al SIDA quedó demostrada por seroepidemiología, detectando la presencia de anticuerpos específicos en el 90 % de los casos de SIDA, mientras que tan sólo fueron positivos el 0,2 % de los sujetos inmunodeprimidos por otras causas y/o controles normales. En el momento actual, en vez de la terminología de LAV o HTLV III, se recomienda el de virus VIH o virus de la inmunodeficiencia humana.

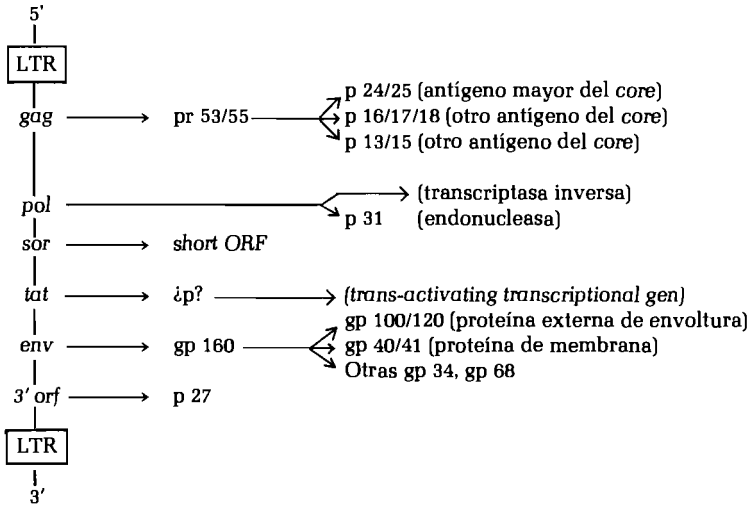
Una de las principales características del virus es la diversidad o polimorfismo de su genoma localizado en la región del gen env, que codifica la fracción externa de la glicoproteína mayor de superficie (gp120), principal impedimento en el desarrollo de una vacuna protectora frente a la infección por VIH.

VIH posee cierto paralelismo con los retrovirus pertenecientes a la subfamilia *lentivirinae* y particularmente con el virus visna, causa de enfermedad neurológica en las cabras. Así, el efecto citopático *in vitro*, la actuación de ambos virus por mecanismos de «trans-activación», el polimorfismo de sus genomas, la capacidad de infectar células cerebrales y cierta homología en la secuencia de nucleótidos podrían clasificar el VIH como un virus lento humano.

Morfología y estructura

La microscopia electrónica de secciones ultrafinas de células productoras de virus muestra dos tipos diferentes de par-

Tabla 68-4. Estructura del genoma vírico del VIH



tículas, unas inmaduras, que se están formando por gemación a través de la membrana citoplásmica celular, y otras maduras, con un core electrodenso, generalmente cilíndrico y excéntrico. Por regla general, los viriones son redondos y ovoides, a pesar de que, en ocasiones y especialmente en el cultivo original a partir del cual fueron aislados, pueden presentar una «prolongación» a modo de «cola». Estas partículas se forman por gemación a través de membranas vesiculares. Al comparar la morfología de VIH con el resto de retrovirus, se observan semejanzas con la presentada por el virus de la anemia infecciosa de los équidos, virus de clasificación incierta que se halla más relacionado con la subfamilia *Lentivirinae*.

El genoma proviral de VIH (tabla 68-4) se compone de seis genes que del final 5' al 3' son:

1. El gen *gag*, que codifica una poliproteína de 55 kdaltons de PM, que da lugar a las proteínas estructurales de core p15, p17 y p24. Esta última presenta, aunque escasa, cierta reacción inmunológica cruzada con la proteína mayor del core de HTLV I y II. A pesar de que p24 y p17 son detectables tanto en las partículas víricas extracelulares como en las preparaciones sonicadas de células infectadas, p55 no se halla presente en cantidades significativas en el virus.
2. El gen *pol*, que codifica una transcriptasa inversa similar a la presente en los tipos I y II y que utiliza igualmente Mg^{++} como catión divalente.
3. El gen *sor*, del que todavía se desconoce la proteína o proteínas que codifica.
4. El gen *tat*, región de 250 nucleótidos que se considera responsable de la estimulación de la expresión genética de las células infectadas por VIH, dirigida por las secuencias LTR del virus, al actuar sobre éstas por un mecanismo de «trans-activación», a pesar de desconocerse actualmente la proteína codificada.
5. El gen *env*, que codifica una poliproteína altamente glicosilada de 160 kdaltons de PM, que se halla en las células infectadas, pero no en las partículas víricas, dando lugar a una glicoproteína mayor de envoltura, gp120, y otra menor, gp41, que se halla en el interior de la membrana citoplásmica. Dichas proteínas no presentan reacciones inmunológicas cruzadas con los tipos I y II y son altamente inmunógenas.
6. El gen *3' orf*, que codifica una proteína presente en las células infectadas, reconocida por el suero de los pacientes, de 27 kdaltons de PM, de la que se desconoce actualmente su función.

Una de las características más importantes del VIH es la diversidad o polimorfismo de su genoma, existiendo un amplio espectro de homología entre los diferentes aislamientos de VIH. La región del genoma que presenta un mayor polimorfismo es la codificadora de la fracción externa de la glicoproteína mayor de superficie.

Características físico-químicas

Es sensible a los siguientes agentes:

Químicos:

Hipoclorito sódico al 0,2 %, 5 minutos.
Hidróxido sódico al 2 %, 5 minutos.
Glutaraldehído al 1 %, 1 hora.
Alcohol al 25 %, 5 minutos.

Se recomienda utilizar soluciones frescas de alcohol al 25 % o glutaraldehído al 1 % para la desinfección de material instrumental e hipoclorito sódico al 0,2 % en superficies.

Físicos: el agente físico de elección es la inactivación del virus por el calor a 53 °C durante 30 minutos, no siendo efectivas las radiaciones ultravioletas utilizadas en las campanas de flujo laminar y cámaras estériles. Como se demostró en el proceso de obtención de concentrados de la coagulación, el virus es resistente a la liofilización.

Patogenia

Los linfocitos T normales infectados *in vitro* por VIH se asemejan inicialmente a los transformados por los tipos I y II, como es la presencia de células gigantes multinucleadas.

Sin embargo, en lugar de producirse la inmortalización celular, éstas pierden su viabilidad de forma espectacular en un período de 2-3 semanas. El inicio de la muerte celular prematura se relaciona con la expresión vírica. Tanto la infección como la muerte celular acontecen en las células T poseedoras del fenotipo $OKT4^+$ (linfocitos T activadores), que disminuyen en número dando lugar a la reducción y posterior cese de la producción de partículas víricas.

La acción selectiva de VIH sobre dicha subpoblación de linfocitos T podría ser debida a la presencia de un epítope en el antígeno T4 de los linfocitos T activadores, que actuaría a la vez como componentes del receptor para VIH.

Los linfocitos T activadores no son las únicas células capaces de ser infectadas por VIH; así, tanto subpoblaciones de linfocitos B que expresan un epítope T4 como macrófagos han sido productivamente infectados por VIH *in vitro*. De mayor relevancia ha sido el hallazgo de infección del virus en las células cerebrales, a pesar de no haberse identificado todavía su naturaleza. Aunque no se conoce la importancia de la infección de células no pertenecientes a la subpoblación de linfocitos T activadores en los mecanismos patogénicos primarios de la enfermedad, la infección de células cerebrales se relaciona con la demencia y otras alteraciones neurológicas asociadas a la infección por VIH, pudiendo incluso representar un reservorio para el virus.

Clínica

Los primeros casos de SIDA fueron descritos en el verano de 1981, cuando el Center for Disease Control (CDC) publicó 5 casos de neumonía por *Pneumocistis carinii* (PCP), en homosexuales de Los Angeles previamente sanos, y 26 casos de sarcoma de Kaposi (KS), en homosexuales previamente sanos de New York y Los Angeles. A partir de entonces el número de casos ha ido aumentando de forma extraordinaria en todo el mundo.

El período de incubación de la enfermedad puede abarcar de 6 meses hasta por lo menos 2 años. Teniendo en cuenta que no se determinó el agente etiológico hasta 1983, la posibilidad de períodos de incubación superiores es desconocida.

La principal característica de la enfermedad es una disminución de la subpoblación de linfocitos T activadores, dando lugar a una severa inmunodepresión y afectando principalmente a determinadas poblaciones consideradas de alto riesgo, que son:

Homosexuales promiscuos.
Drogadictos intravenosos.
Hemofílicos.
Haitianos.
Contactos heterosexuales de los grupos anteriores.
Recién nacidos de madres incluidas en esta clasificación.
Receptores de sangre o productos sanguíneos.

El CDC definió el SIDA (tabla 68-5) como una deficiencia de la inmunidad celular de causa desconocida, que se caracteriza por la presencia de KS en un paciente de menos de 60 años de edad, así como también PCP u otras infecciones oportunas (p. ej. citomegalovirus, herpes zoster, micobacterias atípicas, candidiasis, aspergilosis, criptococosis, toxoplasmosis, etc.).

Tabla 68-5. Criterios diagnósticos del SIDA, según el Centro de Control de Enfermedades (CDC). Atlanta, 1982 y 1985

Criterios diagnósticos del SIDA (1982)
Sujeto sano menor de 60 años que reúna A más, al menos, uno de B:
A. No existir causa conocida de inmunodeficiencia (neoplasias, insuficiencia renal, corticoterapia).
B. Ser portador de enfermedad que refleje importante defecto de la inmunidad celular:
   1. Sarcoma de Kaposi.
   2. Linfoma del sistema nervioso central.
   3. Meningitis, encefalitis o neumonitis por *Pneumocystis, Toxoplasma, Citomegalovirus, Cryptococcus, Aspergillus, Nocardia, Candida, Strongyloides*. Mucormicosis.
   4. Esofagitis por virus del herpes simple, citomegalovirus o *Candida*.
   5. Leucoencefalopatía multifocal progresiva.
   6. Herpes simple mucocutáneo crónico (más de 1 mes).
   7. Enterocolitis criptosporidiásica crónica (más de 1 mes).
   8. Micobacteriosis atípica, histoplasmosis y coccidioidomicosis diseminadas o del sistema nervioso central.

Criterios diagnósticos revisados (1985)
Además de los indicados arriba:
A. En ausencia de infecciones oportunistas requeridas previamente:
   Todos los pacientes con HTLV/LAV positivo con:
   1. Histoplasmosis diseminada (no limitada a ganglios y pulmón), diagnosticada por cultivo, serología o detección de antígeno.
   2. Isosporiasis con diarrea crónica, diagnosticada por histología o cultivo de heces.
   3. Candidiasis pulmonar o bronquial, diagnosticada por histología o características placas blanquecinas bronquiales (no sólo por cultivo).
   4. Linfoma no Hodgkin de alto grado (difuso, indiferenciado) y de células B o de fenotipo inmunológico desconocido, diagnóstico por biopsia.
   5. Sarcoma de Kaposi diagnosticado por biopsia en individuos mayores de 60 años.
B. Neumonitis intersticial linfoide en niños menores de 13 años, diagnosticada histológicamente, con HTLV/LAV positivo
C. Neoplasia linforreticular maligna, diagnosticada 3 meses después de infección oportunista exigida como marcador.
D. Serán excluidos los casos con:
   HTLV/LAV III negativo
   Ausencia de descenso de los linfocitos T cooperantes
   Ausencia de inversión del cociente OKT4/OKT8.
Si no se han podido realizar estas pruebas, los pacientes que cumplan los otros criterios serán incluidos.

Dicha definición posee una utilidad muy limitada para el diagnóstico precoz de la enfermedad, pues fue descrita para identificar el SIDA después del desarrollo de infecciones oportunistas (OI) o sarcomas de Kaposi (KS) debidos al cuadro inmunológico, y no se basa en manifestaciones clínicas y epidemiológicas evidentes en la primera fase de la enfermedad. Esto ha llevado a la aparición de cierta confusión en la clasificación de los pacientes que manifiestan una constelación de signos y síntomas sugestivos de SIDA sin presentar las complicaciones secundarias como OI y KS, que según el CDC definen el cuadro completo de SIDA. Estos pacientes han sido clasificados en diferentes grupos:

1. *Complejo ligado al SIDA (ARC).* Se caracteriza por la presencia de gran variedad de signos y síntomas en sujetos pertenecientes a los grupos de alto riesgo, que incluyen lin-

fadenopatía generalizada, pérdida de peso, fiebre, diarrea crónica, estupor y letargia, así como alteraciones inmunológicas características. No presentan KS u OI.

2. *Síndrome de linfadenopatía crónica.* Se caracteriza por la presencia de linfoadenopatía de por lo menos 3 meses de duración, afectando a dos o más localizaciones extrainguinales en ausencia de enfermedad o proceso causante de dicho cuadro y por la presencia de hiperplasia reactiva en un nódulo linfático.

3. *Pre-SIDA.* Suele utilizarse en aquellos individuos clasificados como ARC que presentan alta probabilidad de desarrollar el síndrome completo. Este término no debería ser utilizado, pues todavía no se conocen los criterios idóneos para predecir el desarrollo de la enfermedad completa.

En un reciente Simposio celebrado en el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos se propuso una nueva clasificación:

Categoría

1 Asintomático.
2 Púrpura trombocitopénica inmune.
3 Linfadenopatía palpable idiopática en dos o más localizaciones no continuas ni inguinales y superiores a 4 meses de evolución.
  A Ausencia de síntomas sistémicos.
  B Fiebre moderada, intermitente o continua con más de 1 mes de evolución.
4 Infecciones oportunistas menores en sujetos de menos de 60 años de edad.
  A Ausencia de adenopatía.
  B Adenopatías.
5 Fiebre continua o intermitente superior a 38,5 °C y de más de 1-2 meses de evolución, diarrea acuosa durante más de 2 semanas o importante pérdida de peso sin una etiología establecida.
6 SIDA con sarcoma de Kaposi.
7 SIDA con infecciones oportunistas con o sin sarcoma de Kaposi.

Alteraciones inmunológicas:

Linfopenia. La linfopenia es una de las primeras alteraciones inmunológicas debida a una disminución selectiva de la subpoblación de linfocitos T activadores, dando lugar a un descenso del índice T4/T8 (linfocitos T citotóxicos/supresores).

Alteración funcional de las células T. La afectación de los linfocitos T no es tan sólo cuantitativa sino también cualitativa.

Un hecho importante ha sido el hallazgo de que la disminución de la respuesta linfocitaria al estímulo por mitógeno *(pockweed)* es debida principalmente a un defecto cuantitativo de éstos, mientras que la disminución de la respuesta linfocitaria a un antígeno soluble (toxoide tetánico) es debida a una alteración tanto cuantitativa como cualitativa en la subpoblación de linfocitos T activadores. Esta deficiencia selectiva en la capacidad de respuesta linfocitaria a antígenos solubles se halla en relación con datos recientes que proponen la molécula T4 como el receptor celular de superficie para VIH. La molécula T4, que se halla relacionada con el sistema de histocompatiilidad clase II, probablemente representa un importante papel en la capacidad de dichos linfocitos de reconocer la presentación de antígeno a cargo de los monocitos y macrófagos. Así, la interferencia en la función fisiológica normal de dicha molécula puede provocar la incapacidad de respuesta de las células T activadoras a la presentación de antígeno, a pesar de una estimulación por mitógenos intacta, pues son independientes del HLA clase II.

Alteración de los linfocitos B. En el SIDA, los linfocitos B presentan un estado de activación policlonal que da lugar a niveles elevados de inmunoglobulinas séricas, inmunocomplejos circulantes y diversos fenómenos autoinmunes. Sin embargo, su capacidad de respuesta a mitógenos se halla disminuida, lo que sugiere un defecto intrínseco de su función al no responder normalmente a los inductores de diferenciación de linfocitos B ya sean dependientes de los linfocitos T *(pockweed)* o no *(Staphyloccocus aureus Cowan I).* Debido a la actuación, proliferación y producción activa de inmunoglobulinas, los linfocitos B son incapaces de responder serológicamente frente a un nuevo antígeno o infección.

Alteración de los monocitos. Se caracteriza por una quimiotaxis y citotoxicidad disminuida. La producción de la interleuquina 1 y de prostaglandina E2, sin embargo, se halla elevada, a pesar de existir una disminución de la respuesta a los estímulos que generalmente inducen la producción de ésta, sugiriendo un estado de activación que daría lugar a una falta de respuesta a nuevos antígenos.

Inmunopatogenia. La infección específica de los linfocitos T activadores por VIH podría producir una replicación activa vírica, dando lugar a un efecto citopático y muerte celular, mientras que en otras células podría permanecer integrado en el ADN celular en ausencia de replicación y ser causa de alteraciones funcionales; así, a pesar de la viabilidad celular, existiría una disminución de la expansión clonal de los linfocitos T activadores.

Infecciones oportunistas:

Virus:

Citomegalovirus.
Virus del herpes simple.
Varicela-zoster.
Virus de Epstein-Barr.

Bacterias:

Mycobacterium avium intracelullare.
Mycobacterium tuberculosis.
Salmonella sp.
Listeria monocitogenes.
Legionella sp.

Parásitos:

Pneumocistis carinii.
Toxoplasma gondii.
Criptosporidium.

Hongos:

Candida albicans.
Criptococcus neoformans.
Aspergillus.

Sarcoma de Kaposi (KS). El KS es una neoplasia endémica en Africa, que en el SIDA histológicamente se manifiesta por la proliferación de elementos fibroblásticos y microcelulares, y clínicamente por la aparición en piel y mucosas de máculas, pápulas o nódulos de localización generalizada, con frecuencia afectación vascular, ganglionar y del sistema inmunitario. Es mucho más frecuente entre homosexuales de raza blanca que entre sujetos de raza negra y drogadictos intravenosos.

La mortalidad es de aproximadamente el 40 %, con un 60 % de pacientes vivos al cabo de 1 año de evolución y un 50 % a los 22 meses.

Curiosamente, mientras que la incidencia de KS entre los drogadictos intravenosos afectos de SIDA es de 3,8 %, en los homosexuales es del 48 %, indicando la existencia de factores adicionales en la etiología del KS en este último grupo. Uno de estos factores podría ser la infección por citomegalovirus (CMV). Así, existe mayor prevalencia de anticuerpos específicos frente a dicho virus entre los homosexuales que entre los drogadictos. Entre los pacientes africanos afectos de dicho proceso tumoral existe una alta incidencia de infección por CMV, pudiendo aislar el virus y detectar el ácido nucleico vírico a partir de tejido tumoral. Por otro lado, recientemente se ha demostrado la capacidad del CMV de transformar células de hámster *in vitro*. Así, a pesar de no haberse demostrado el papel de CMV en KS, la evidencia apoya la existencia de cierta asociación etiológica entre el virus y el tumor.

Afectación neurológica. El síndrome de inmunodeficiencia adquirida se ve frecuentemente complicado por un cuadro neurológico denominado «la demencia del SIDA», caracterizado por alteraciones motoras y del área cognoscitiva. Estudios utilizando técnicas de microscopia electrónica y de determinación de ácidos nucleicos, así como el examen histopatológico de tejido cerebral, sugieren que dicha afectación es debida a la infección directa del sistema nervioso central por VIH.

Recientemente, utilizando un anticuerpo monoclonal frente a la proteína estructural de *core* p25, se ha podido detectar la presencia de antígenos de VIH en la sustancia blanca y en los núcleos de la base del cerebro en los pacientes afectos, concretamente en las células multinucleadas gigantes, astrocitos y neuronas. Estos resultados indican que no sólo las células sanguíneas, sino también las células gliales y neuronales, actúan como diana para VIH en una distribución compatible con la histopatología subcortical de la demencia del SIDA.

Pronóstico. La supervivencia media de los pacientes afectos de SIDA es:

KS aislado, 125 semanas.
PCP aislado, 35 semanas.
OI diferente a PCP, 18 semanas.

Alrededor del 86 % de pacientes afectos de SIDA sobreviven la primera hospitalización, a pesar de que la calidad de vida se ve severamente disminuida (46 % de pacientes consumen el 30 % del período de supervivencia en el hospital y un 32 % requiere una hospitalización del 50 % de dicho período).

Así, una vez desarrollado el síndrome completo, la calidad y cantidad de vida se ven gravemente afectadas, no existiendo ningún caso descrito de supervivencia.

Diagnóstico de laboratorio

Diagnóstico histológico. Por regla general, la patología de la enfermedad asociada a VIH se ha caracterizado principalmente atendiendo a las complicaciones infecciosas y neoplásicas y no a las lesiones atribuidas al agente etiológico, probablemente debido a la dificultad de determinar dichas lesiones ante la presencia de manifestaciones morfológicas del déficit inmunitario, superimposición neoplásica e infecciones oportunistas diseminadas.

En la biopsia de ganglio linfático en los pacientes afectos de ARC se observa hiperplasia folicular, plasmocitosis y moderada o inexistente hiperplasia paracortical. A medida que progresa la enfermedad, la depleción linfoide es mayor, siendo paralela al grado de linfopenia. Inicialmente se produce un descenso de linfocitos T en el área paracortical, acompañado de plasmocitosis e hialinización variable de los centros germinales. La evaluación inmunohistoquímica sobre secciones congeladas demuestra una pérdida selectiva de los linfocitos T activadores, así como un aumento del número de linfocitos T supresores/citotóxicos en los centros germinales, donde no se encuentran generalmente. En estados muy avanzados existe una disminución de linfocitos T y B y formación de tejido de granulación y microabscesos debido al alto grado de inmunodepresión, siendo prácticamente ineficaz en esta fase toda acción terapéutica encaminada a restaurar el estado inmunológico del paciente.

Diagnóstico inmunológico. Se basa principalmente en la linfopenia, la disminución del índice T4/T8, ausencia de reacciones de hipersensibilidad cutánea y aumento del número de inmunoglobulinas séricas e inmunocomplejos circulantes.

Diagnóstico virológico:

Recogida de muestras. Para el aislamiento del virus, las muestras de preferencia son los linfocitos T frescos o recientemente congelados de los pacientes afectos de SIDA, obtenidos a partir de sangre periférica heparinizada sometida a un gradiente de Ficoll. La obtención de linfocitos T a partir de pacientes afectos del síndrome completo es relativamente difícil debido a la gran depleción de dichas células, siendo mucho más sencilla a partir de sujetos asintomáticos o pacientes afectos de ARC. En caso de no poder procesarse en el acto, las células deberán conservarse congeladas en nitrógeno líquido.

El virus también puede ser aislado a partir de líquidos corporales (LCR y plasma), secreciones (semen, saliva y lágrimas) y tejido (cerebro, medula ósea y ganglio linfático).

Examen directo. Prácticamente no existe información sobre las técnicas de examen directo de VIH en las muestras clínicas. El examen directo por microscopia electrónica, inmunológico, en busca de antígenos en secciones de tejido congelado y las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos no han sido descritos probablemente a causa de su escasa utilidad debido a la importante pérdida de las células diana. Sin embargo, utilizando técnicas de microscopia electrónica, *Southern blotting* e hibridación *in situ* de ácidos nucleicos se ha detectado la presencia de partículas víricas, ADN y ARN víricos, respectivamente, en tejido cerebral.

Aislamiento. Los linfocitos T u homogeneizados de tejidos obtenidos a partir de los pacientes afectos de SIDA son aña-

didos a cultivos de linfocitos normales de sangre periférica, previamente estimulados con fitohemaglutinina y en medio RPMI 1640 en presencia de interleukina 2 (IL2 o TGCF). La presencia vírica en el líquido sobrenadante de los cultivos se inicia alrededor de 1-2 semanas, coincidiendo con una reducción del número total de células viables en cultivo. Así, debido al marcado carácter citotópico de VIH se produce la lisis de la mayoría de células en pocas semanas, siendo necesario el cultivo de dichos linfocitos con la línea celular H9, con el fin de obtener títulos adecuados del virus para posteriores estudios. En la actualidad, VIH ha sido aislado a partir de líquidos corporales, secreciones y tejidos (sangre, LCR, semen, saliva, lágrimas, ganglio linfático, medula ósea, cerebro, etc.).

Identificación del virus aislado:

Presencia de actividad transcriptasa inversa en el líquido sobrenadante de los cultivos.

Microscopia electrónica de las células en cultivo infectadas, en donde se observan las partículas víricas características en el espacio extracelular o formándose por gemación a través de la membrana citoplásmica celular.

Detección de las proteínas víricas mediante técnicas de inmunofluorescencia, inmunoperoxidasa o *Western blotting*, utilizando anticuerpos monoclonales frente a la proteína mayor de core P24 o policlonales y el suero de pacientes afectos de SIDA con títulos elevados de anticuerpos.

Detección de ácidos nucleicos en las células en cultivo, ya sea ADN a través de *Southern blotting* o ARN en *Northern blotting* o hibridación *in situ*.

La incidencia aproximada de aislamientos de VIH en la actualidad es de un 90 % en pacientes afectos de ARC, 50 % en enfermos de SIDA y 30 % en sujetos sanos incluidos en grupos de alto riesgo.

Diagnóstico serológico. En la actualidad se están utilizando diferentes tests inmunodiagnósticos para determinar la presencia de anticuerpos específicos frente a VIH: ELISA, *Western blotting*, radioinmunoprecipitación con electroforesis en gel de poliacrilamida (RIPA), inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa. Las técnicas de *Western blotting* y RIPA pueden utilizar concentrados víricos extracelulares y homogeneizados celulares como fuente de antígeno, mientras que las dos técnicas inmunohistoquímicas necesitan células infectadas. Los *kits* de ELISA disponibles utilizan concentrados víricos, estando bajo estudio la utilización de péptidos cortos obtenidos por técnicas de recombinación de ADN como fuente de antígeno.

Todos los tests de *screening* presentan sus ventajas e inconvenientes. Así, los que utilizan únicamente virus extracelular (ELISA y *Western blotting*) pueden presentar falta de sensibilidad cuando las preparaciones víricas no contienen gp160, gp120 y gp41, glicoproteínas de envoltura, de alto poder inmunógeno, que suelen perderse en los procesos de purificación. Dichas preparaciones víricas son ricas en p24 y p17, pero estas proteínas presentan generalmente un menor poder inmunógeno. El test de ELISA posee la ventaja de ser el más barato, pero puede presentar problemas potenciales en relación a falsos positivos debidos a proteínas contaminantes, procesos autoinmunes (artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, etc.), síndromes linfoproliferativos (ATL), sujetos sanos con anticuerpos específicos frente a HTLV I y hepatitis B crónica. Igualmente pueden existir problemas de falsos negativos en los pacientes con anticuerpos detectables exclusivamente frente a las glicoproteínas de superficie. Los tests que utilizan células infectadas homogeneizadas (*Western blotting* y RIPA) o fijadas sobre portaobjetos (inmunohistoquímicas) son los que presentan un mayor grado de sensibilidad, siendo su principal inconveniente la necesidad de poseer la línea celular permisiva H9 infectada por VIH. Una segunda causa de falsos negativos son los sujetos asintomáticos seronegativos con aislamiento vírico positivo (20 % del total de portadores del virus); así, claramente, existe la necesidad de obtener en un futuro próximo pruebas diagnósticas más eficientes, como *kits* de ELISA que utilicen glicoproteínas de superficie obtenidas por técnicas de recombinación de ADN o el desarrollo de pruebas sencillas para la detección de antígenos víricos.

A pesar de que la sensibilidad de ELISA es del 98,6 %, la especificidad es únicamente del 81,7 %; así, la reactividad de un suero en los tests de ELISA se considera positiva si dicho resultado se repite en una segunda determinación y en una segunda muestra o bien tras confirmar el resultado con una técnica más específica como el *Western blotting* o la inmunofluorescencia.

Tratamiento

A pesar de la aplicación de terapia adecuada en la mayoría de las infecciones oportunistas y los eficaces protocolos existentes en el tratamiento del sarcoma de Kaposi, no existen terapias antivíricas o dirigidas a frenar el progresivo déficit inmunitario que desarrollan los pacientes afectos de SIDA, que mueren en un período de 2 años ya sea por una infección oportunista recurrente o progresión neoplásica.

Tratamiento inmunológico. Las principales medidas terapéuticas para corregir el estado inmunitario son:

Interleukina 2 (IL2 o TCGF). Ha sido demostrado *in vitro* un marcado aumento de la citotoxicidad de las células T normales y de pacientes afectos de SIDA al incubarlas en presencia de IL2. Las pruebas clínicas realizadas hasta la actualidad no han demostrado una mejoría clínica o inmunológica ante dicho tratamiento, en el que se han fundado grandes esperanzas.

Gamma-interferón. Linfoquina que a semejanza de la anterior es sintetizada por las células T y que presenta propiedades antivíricas e inmunorreguladoras, siendo un potente estimulador de la actividad citotóxica de los macrófagos a la vez que incrementa la expresión de los antígenos del sistema de histocompatibilidad clase II, que teóricamente regulan la capacidad de presentación de antígeno de los macrófagos. Hasta el momento no existen resultados positivos respecto a su eficacia clínica.

Transferencia de linfocitos o trasplante de medula ósea. La práctica de estas medidas comporta incrementos en el número de linfocitos T activadores y en el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad, aunque éstos son únicamente transitorios. El carácter temporal de dichos cambios sugiere que el agente etiológico VIH no presenta una acción transitoria, sino persistente. Así, el uso de terapia restauradora del sistema inmunológico sólo poseerá valor asociada al uso de una terapia vírica eficaz.

Tratamiento antivírico. Debido al carácter altamente citopático de VIH, la replicación vírica es un hecho importante en el desarrollo de la enfermedad. Los diferentes tratamientos en estudio se hallan dirigidos a bloquear las diferentes fases de replicación vírica.

Las primeras fases de la replicación (adsorción y penetración) podrían ser bloqueadas teóricamente utilizando anticuerpos monoclonales frente a receptores que contengan el antígeno T4 ó a través de oligopéptidos sintéticos con secuencias de aminoácidos semejantes a ciertas regiones de la superficie vírica.

El área más importante en la investigación antivírica frente a VIH es la búsqueda de inhibidores de la transcriptasa inversa, que impedirían la formación del ADN vírico o provirus, no siendo capaz, por tanto, de integrarse en el ADN celular.

Suramina. Fármaco utilizado en el tratamiento de la tripanosomiasis y que es un potente inhibidor de la transcriptasa inversa en diversos retrovirus animales (virus de la leucemia murina, virus de la mieloblastosis aviar, etc.). Recientemente se ha demostrado la protección celular *in vitro* frente a la infección y efecto citopático de VIH de este fármaco. Las pruebas clínicas preliminares indican un efecto virostático de la suramina *in vivo*. Sin embargo, la principal desventaja es su considerable toxicidad (afectación renal, fiebre, erupciones cutáneas, fotosensibilidad, etc.).

Fosfonoformato. Antivírico utilizado frente a la ADN-polimerasa de los herpesvirus. Es capaz de inhibir *in vitro* la replicación de ciertos retrovirus animales (virus de las leucemias bovina y murina, virus del sarcoma de los monos, etc.) y de VIH. Hay en preparación ensayos clínicos.

Antimonio-tungstato (HPA-23). Actúa como un inhibidor competitivo de la transcriptasa inversa de los retrovirus animales y humanos. Diversos pacientes tratados en Francia presentan una reducción de la producción de VIH en sangre periférica. Los efectos tóxicos se resumen en una disminución de las plaquetas y aumento de las transaminasas, alteraciones reversibles al finalizar el tratamiento.

Ansamicina. Fármaco utilizado en el tratamiento de las micobacterias atípicas, de recientemente probada acción frente a la ADN-polimerasa vírica.

La reciente evidencia de un incremento de la transcripción de VIH a través de una proteína «trans-activadora» representa un potencial campo de estudio para la terapia antivírica.

Las dianas de la fase de transcripción se hallan representadas por el ARNm retrovírico (vidarabina y desoxiadenosina, que inhiben la metilación del ARNm de ciertos retrovirus) y polipéptidos precursores de las proteínas víricas (tiosemicarbazona o fármacos que inhiban las proteasas que actúan sobre dichas proteínas).

Ribavirina. Conocido antivírico frente a los virus tanto ADN como ARN, que es capaz de inhibir la replicación de los retrovirus murinos al actuar sobre el ARNm vírico. Se ha demostrado su acción *in vitro* sobre VIH a dosis no tóxicas. En la actualidad se halla en preparación la realización de ensayos clínicos sobre pacientes afectos de ARC.

Las etapas finales de la replicación podrían representar zonas de actuación de diversos fármacos.

La azidotimidina (retrovir) inhibe la síntesis del ADN, a partir del ARN vírico. Su administración mejora la supervivencia de los enfermos de SIDA.

Alfa-interferón. Ha demostrado poseer actividad antivírica clínica en varias infecciones humanas (herpes zoster y *labialis*, hepatitis B, papilomatosis, etc.) y como agente preventivo, en los trasplantes renales, de las infecciones por citomegalovirus. Es capaz de inhibir la replicación de VIH en los linfocitos T en cultivo a concentraciones que no afectan la multiplicación celular. El mecanismo de actuación se halla actualmente bajo estudio.

Anticuerpos monoclonales o células T sensibilizadas podrían actuar sobre el virus durante su formación por gemación a través de la membrana celular.

Tratamiento combinado. Al igual que en el tratamiento de otros procesos víricos, la combinación de agentes antivíricos con diferentes mecanismos de acción puede resultar aditiva o sinérgica y reducir la frecuencia de aparición de resistencias. Las asociaciones de interferón a inhibidores de la transcriptasa inversa o a ribavirina podrían ser combinaciones efectivas. La terapia para el control de la replicación de VIH con un fármaco único o una combinación de éstos deberá ser prolongada; así, la aplicación de regímenes antivíricos alternos podría ser útil en la disminución de resistencias y toxicidad.

Los agentes antivíricos, aislados o asociados, podrían no ser útiles sin la ayuda de una terapia inmunoestimuladora adicional como IL2. Por otro lado, la estimulación de la multiplicación de células T, en ausencia de una adecuada terapia antivírica, podría ser infructuosa o incluso contraproducente al dar lugar a un aumento de la población de células diana para la replicación vírica. La combinación de terapia inmunorreguladora y antivírica podría ser la más eficaz en el futuro.

Epidemiología y profilaxis

En la actualidad se han realizado importantes progresos en la prevención de la transmisión de VIH a partir de la sangre o productos sanguíneos a través de:

Sugerir a los grupos de alto riesgo la abstención en la donación de sangre.

Aplicación de pruebas serológicas para la identificación de anticuerpos específicos en dichos productos.

Exclusión de las unidades de sangre seropositivas de los bancos de sangre.

Inactivación del virus por el calor en la preparación de concentrados de factores de coagulación.

Estudios prospectivos preliminares en hemofílicos seronegativos sugieren que dichas medidas han disminuido dicha transmisión de una forma significativa.

El Departamento de Salud Pública de los Estados Unidos recomendó a los miembros de los grupos de alto riesgo la reducción del número de sus *partners* sexuales. Los seguimientos confirman una importante reducción en la media del número de éstos en los últimos 2 años; así, el número de infecciones de transmisión sexual entre los homosexuales ha sufrido una notable reducción, de tal manera que los casos de gonorrea rectal en San Francisco han disminuido en un 70 % entre 1980 y 1984. Sin embargo, la prevalencia de anticuerpos específicos frente a VIH ha aumentado en un

280 % en este grupo de población, incrementando, por tanto, el riesgo de transmisión. Las medidas más importantes para evitar esta vía de transmisión es la exclusión de todo contacto sexual que implique intercambio de fluidos corporales, como semen y saliva. Medidas preventivas, como preservativos, diafragmas o pomadas espermicidas, ofrecen una protección teórica de eficacia no probada.

Se recomienda la realización de un test serológico a todas las mujeres incluidas en los grupos de alto riesgo antes de considerar la posibilidad de un embarazo.

Los sujetos con evidencia clínica, serológica o epidemiológica de infección evitarán la transmisión a otros a través del contacto sexual o intercambio de jeringuillas, debiendo abstenerse de donar sangre, plasma, órganos, tejidos o semen, que deben ser tratados para prevenir la transmisión.

A pesar de que el riesgo de infección por VIH es escaso entre el personal sanitario, deben tomarse precauciones encaminadas a evitar el contacto percutáneo o mucoso con material posiblemente contaminado. Particular atención debe dirigirse a evitar las heridas abiertas accidentales, al adecuado desecho de las jeringuillas y al etiquetado de todas las muestras sospechosas. En el laboratorio deben utilizarse medidas de contención biológica, como presión positiva constante de aire, campanas de flujo laminar, material desechable, pipetas automáticas, mascarillas, guantes y el uso de desinfectantes adecuados (hipoclorito sódico al 0,2 %). En general se recomienda utilizar todas las medidas preventivas en uso para el manejo de productos contaminados por el virus de la hepatitis B.

Existen, principalmente, dos grandes interrogantes respecto a la realización de una vacuna: la identificación de sujetos expuestos al virus, pero que presentan anticuerpos protectores, y el aislamiento del antígeno que contiene los epítopes responsables de la producción de dichos anticuerpos. A pesar de que todos los individuos expuestos a VIH desarrollan anticuerpos, la mayoría no presentan anticuerpos neutralizantes. El antígeno que parece inducir dicha respuesta es la glicoproteína de superficie p120, altamente glicosilada. Problemas potenciales pueden derivarse de la existencia de heterogenicidad o polimorfismo en el genoma de VIH entre los diferentes aislamientos obtenidos, particularmente a nivel del gen *env*.

OTROS RETROVIRUS EN HUMANOS

Partículas similares a las de tipo B de tumores mamarios de ratones se han detectado en la leche de mujeres parsihindúes de Bombay (grupo con alta incidencia de cáncer de mama), en mujeres con cáncer de mama y en el 60 % de las mujeres norteamericanas con antecedentes familiares de dicho tumor. Estas partículas ARN, con transcriptasa inversa, precipitan con sueros antivirus del tumor murino de mama, pero no se ha demostrado su infecciosidad. Sí se ha comprobado que el ADN sintetizado por el virus murino es capaz de hibridarse con el ARN polisómico de adenocarcinomas mamarios humanos y no con ADN normal o de otros tumores.

Partículas tipo D y transcriptasa inversa tipo D se han encontrado en la leche de mujeres con cáncer de mama y carcinomas ováricos.

También se han demostrado viriones tipo C en teratocarcinomas y seminomas.

TEORIAS DE LA ONCOGENESIS VIRICA

Se ha propuesto varias teorías para explicar los mecanismos de producción de tumores por los virus.

Teoría de provirus

Está basada en que la invasión del virus (transmisión horizontal) va seguida de la integración en el genoma celular en forma de ADN bicatenario o provirus. Este proceso sería directo en el caso de los virus ADN o tras el mecanismo enzimático antes estudiado, en los ARN. El provirus mediante agentes físicos o químicos desencadenan la transformación celular. Los inhibidores de la síntesis del ADN (5-yododesoxiuridina, arabinósido de citosina) prevendrían la replicación vírica y la transformación celular que la partícula induce. Por lo tanto, la necesidad de síntesis temprana de ADN corresponde a la formación de un provirus intermedio de ADN, que en el caso de los retrovirus sirve luego de molde para la síntesis de nuevo ARN vírico (Temin). Pero salvo en casos de infección experimental, se considera que los retrovirus se transmiten de manera vertical, es decir, de generación en generación.

Teoría de oncogén

Esta hipótesis sostiene que el genoma de las células contiene información genética para la producción de virus completo (virogén) y que éste es parte intrínseca del material genético heredado verticalmente en las células de los vertebrados. El oncogén es el segmento del virogén que codifica la producción de la proteína «transformante» responsable de la génesis del tumor; otras zonas codifican los antígenos internos y externos, y las enzimas (fig. 68-4). El grado de expresión de los diferentes componentes del genoma vírico es controlado por los genes reguladores de la célula huésped, en interacción con los factores ambientales (cancerígenos físicos, químicos o biológicos). Si toda la información del virogén es liberada por la célula huésped, se producen virus ARN, y la célula es transformada, pero no se forman partículas víricas. Normalmente, el virogén está reprimido en la célula (protooncogén) y los agentes cancerígenos serían los que lo desreprimirían o liberarían, por inhibición del mecanismo de represión (véase pág. 729). En resumen, la teoría del oncogén de Huebner y Todaro se sintetiza en los siguientes puntos:

1. El virógeno se transmite genéticamente a la prole.
2. El protooncogén integrado se encuentra bajo el control genético del huésped.
3. El protooncogén puede ser inducido espontánea o experimentalmente por factores extrínsecos.

Hoy día se han caracterizado más de 20 oncogenes, lo que ha permitido agruparlos en familias. Cada familia codificaría la síntesis de un grupo de proteínas, relacionadas con el mecanismo de acción tumoral.

Al conocimiento de los oncogenes se ha llegado no sólo por el estudio de los retrovirus, sino también por transferencia de ADN de células cancerosas a células normales (transfección), que se convierten en neoplásicas. Mediante

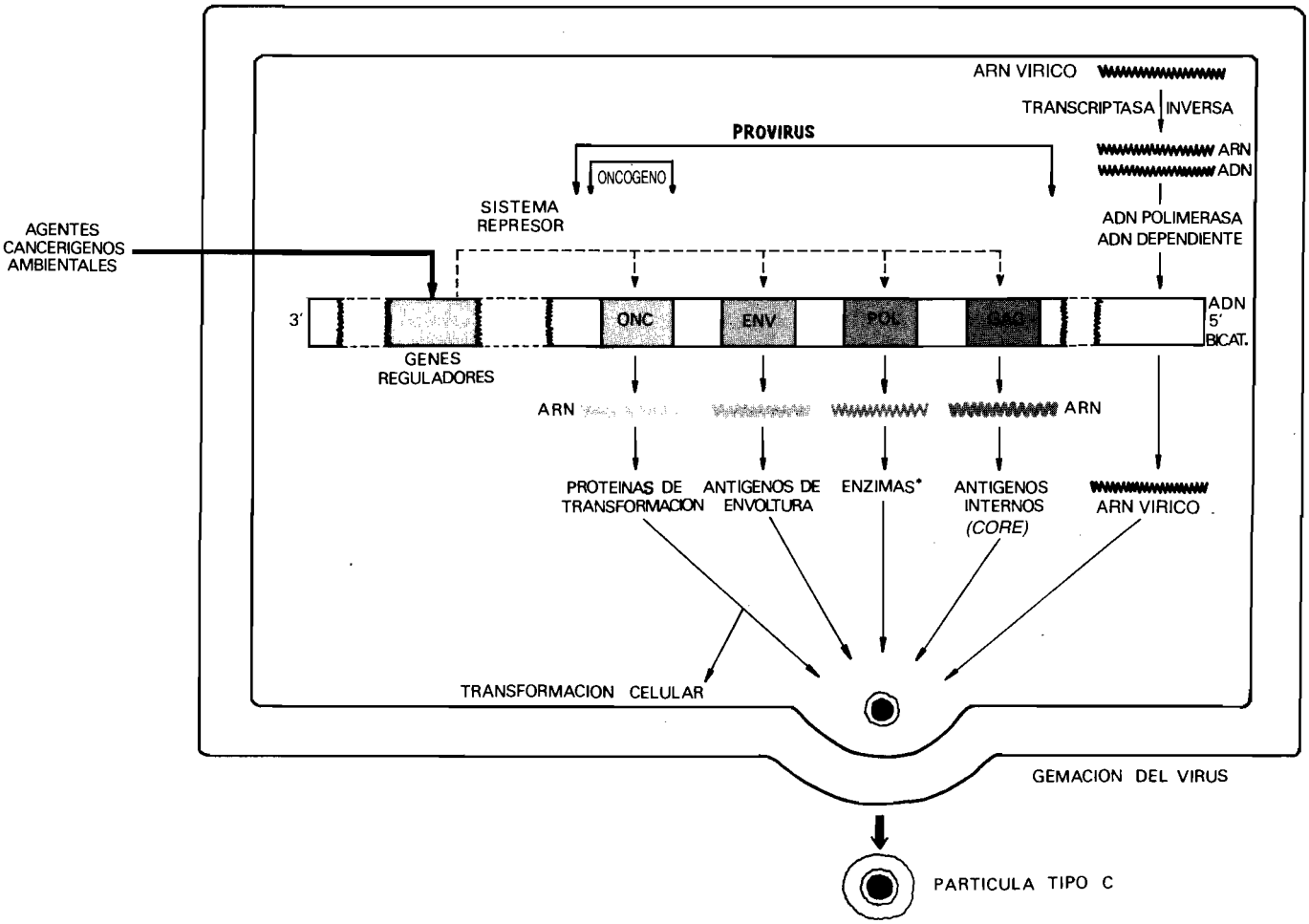


Fig. 68-4. Esquema de la posible regulación del provirus, que contiene el oncogén. Los cuatro genes pueden estar reprimidos por los genes reguladores. El sistema represor puede actuar regulando la expresión de la totalidad de los genes, o de algunos de ellos, lo que daría lugar a la producción de virus sin transformación neoplásica o viceversa. *Transcriptasa inversa. ARN-asa H y ADN-endonucleasa.

técnicas del ADN recombinante se ha conseguido multiplicar el fragmento responsable de la transformación y disponer de cantidades adecuadas para su mejor estudio. Así, se han identificado oncogenes en tumores humanos, como cáncer de pulmón, páncreas, colon, mama, vejiga y vesícula biliar. Además, se han aislado los correspondientes protooncogenes en células normales.

La naturaleza del paso de protooncogén a oncogén se va conociendo mejor en sus distintas familias. Así, en el cáncer de vejiga humano se sabe que es una sustitución de la guanina por la timina en posición 35. El oncogén resultante codifica una proteína nueva, que es transformante y sólo difiere de la fisiológica en que en la posición 12 se sustituye el aminoácido glicina por valina. Además de esta mutación puntual, se conocen otras por traslocación: el linfoma de Burkitt está asociado a la traslocación 8/14; el cromosoma 8 contiene un protooncogén y el 14, los genes que codifican la cadena pesada de las inmunoglobulinas. Después de la traslocación se producen cantidades elevadas de las proteínas codificadas por el nuevo ADN, que contiene las dos secuencias. En la leucemia crónica mieloide humana existe una traslocación 9/22, por la que el protooncogén existente en el cromosoma 9 pasa al 22 (cromosoma Philadelphia) con un incremento de la producción de la proteína oncogénica. En el plasmocitoma del ratón se han observado dos mutaciones por traslocación, causantes del cuadro: la 12/15 y 6/15; en el cromosoma 15 se encuentra el protooncogén, en el 12, los genes productores de la cadena pesada de las inmunoglobulinas y en el 6, los genes formadores de la cadena ligera.

Teoría del protovirus

Esta teoría de Temin se basa en que la línea germinativa de los vertebrados contiene zonas de ADN, que en las células somáticas pueden evolucionar por transferencias, gracias a las enzimas conocidas, de forma ADN → ARN → ADN, pero en casos anómalos se formaría un genoma ARN de virus oncógeno. Esto podría deberse a mutaciones o recombinaciones, que generan oncogenes que sintetizan ARN, por una ARN-polimerasa ADN-dependiente.

Estos virus infectarían posteriormente células contiguas y las transformarían.

Aunque el cáncer humano es una enfermedad de etiología multifactorial, hoy día se puede deducir que los virus son factores mayores de riesgo. Los estudios actuales y los que se realicen en el futuro llevarán a un mejor conocimiento del papel de los virus en las neoplasias humanas, y las consecuencias diagnósticas, terapéuticas y preventivas de este hecho serán de enorme interés.

BIBLIOGRAFIA

Barré-Sinoussi, F.; Chermann, J. C., y Rey, F.: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from patient at risk for AIDS. Science, 220, 868-871, 1983.

Beasley, R. P.; Hwang, L. Y.; Lin, C. C., y Chein, C. S.: Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. Lancet, 2, 1129-1132, 1981.

Beasley, R. P.: Hepatitis B virus as the etiologic agent in hepatocellular carcinoma-epidemiologic considerations. Hepatology, 2, 21-25, 1982.

Bishop, J. M.: Oncogenes. Sci. Ann., 246, 68-78, 1982.

Blumberg, B. S., y London, W. T.: Hepatitis B virus and the prevention of primary hepatocellular carcinoma. N. Engl. J. Med., 304, 782-784, 1981.

De Vita, V. T.; Hellman, S., y Rosenberg, S. A.: SIDA. Etiología, diagnóstico, tratamiento y prevención. Salvat Editores, Barcelona, 1986.

Ercilla, M. G., y Barrera, J. M.: Anticuerpos anti-HTLV III. Métodos de detección y significación biológica. Med. Clín., 86, 123-125, 1986.

Essex, M.; Todaro, G. J., y Zur Hausen, H.: Viruses in naturally occurring cancers, vol 7. Cold Spring Harbor, New York, 1980.

Forman, D., y Rowley, J.: Chromosomes and Cancer. Nature, 300, 403-404, 1982.

Gallo, R. C.: Human T-cell leukemia-lymphoma virus and T-cell malignancies, in adults. En Franks, L. M.; Wyke, J., y Wens, R. A. (dirs.): Cancer Surv., 3, 113-120, 1984.

Gallo, R. C.; Essex, M., y Gross, L.: Human T-cell leukemia/lymphoma Virus. Cold Spring Harbor, New York, 1984.

Gallo, R. C.; Salahuddin, S. Z.; Popovic, M., y cols.: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science, 224, 500-503, 1984.

Gardner, S. D.: The new human papovaviruses: Their nature and significance. Recent Adv. Clin. Virol., 1, 93, 1977.

Graf, T., y Jaenisch, R.: Tumorviruses, Neoplastic Transformation and Differentiation, Current Topic in Microbiol. and Immun., vol. 101. Springer, Berlin, 1982.

Hirsch, M. S., y Kaplan, J. C.: Prospects of therapy for infections with human T-lymphotropic virus tipe III. Ann. Intern. Med., 103, 750-755, 1985.

Henle, W.; Rapp, F., y de Thé, G.: Herpesviruses and Oncogenesis. Int. Agency for Research on Cancer, Lyon, 1978.

Hyatt, H. H.: Watson, J. D., y Winsten, J. A.: Origins of human cancer. Cold Spring Harbor, New York, 1977.

Kew, M. C.: Hepatoma and the HBV. En Vyas, G. N.; Cohen, S. N., y Schmid, R. Viral Hepatitis. Franklin Institute Press, Philadelphia, 439-450, 1978.

Klein, G.: Viral Oncology. Raven Press, New York, 1980.

Kurstak, E., y Mamarosch, K.: Viruses. Evolution and Cancer. Academic Press, New York, 1974.

Moore, D. N.: Mammary tumor viruses. Adv. Cancer Res., 29, 347, 1979.

Omata, M.; Ashcavai, M.; Liew, C. T., y Peters, R.: Hepatocellular carcinoma in the USA; etiologic considerations. Localization of hepatitis B antigens. Gastroenterology, 76, 279-287, 1979.

Popovic, M.; Sarngadharan, M. G.; Read, E., y Gallo, R. C.: Detection, isolation and continuous production of cytophatic human T-lymphotropic retrovirus (HTLV III) from patients with AIDS and pre-AIDS. Science, 224, 497-500, 1984.

Pulciani, S.; Santos, E.; Lauver, A. V.; Long, L. K.; Aaronson, S. A., y Barbacid. M.: Oncogenes in solid human tumours. Nature, 300, 539-542, 1982.

Pumarola-Suñé, T., y Cordon, C.: El virus del SIDA. Med. Clín., 86, 115-117, 1986.

Rapp, F., y Westmoreland, D.: Cell transformation by DNA containing viruses. Biochim. Biophys. Acta, 458, 167, 1976.

Robert-Guroff, M.; Brown, M., y Gallo, R. C.: HTLV-III-neutralizing antibodies in patients, with AIDS-related complex. Nature, 316, 72-74, 1985.

Stephenson, J. R.: Molecular biology of RNA tumor viruses. Academic Press, New York, 1980.

Szmuness, W.; Alter, H. J., y Maynard, J. E.: Viral hepatitis. Franklin Institute Press. Philadelphia, 1982.

Tooze, J.: The molecular biology of tumor viruses. Cold Spring Harbor Lab., New York, 1973.

Tooze, J.: DNA tumor viruses: Molecular biology of tumor viruses. Cold Spring Harbor Lab., New York, 1980.

Van der Noordan, J.: Infectivity, oncogenicity and transforming ability of BK virus and Bk virus DNA. J. Gen. Virol., 30, 371-373, 1976.

Weimberg, R. A.: Fewer and fewer oncogenes. Cell, 30, 3-4, 1982.

Wong-Steal, F., y Gallo, R. C.: Human T-lymphotropic retroviruses. Nature, 31, 395-403, 1985.

Parte VI

Micología

Capítulo 69

Micología general

Gonzalo Piédrola-Angulo

De las más de 100.000 especies existentes de hongos en la naturaleza, la mayoría son saprofitos y no llegan a 100 las que han demostrado su capacidad de producir enfermedades en el hombre. Los hongos son beneficiosos por su papel en el ciclo natural del carbono, en la nutrición de las plantas o en la producción industrial de bebidas (vino, cerveza), alimentos (pan, queso, setas) y los más variados productos químicos, incluidos los antibióticos. Algunos pueden alterar los alimentos o utensilios humanos, pero muy pocos son patógenos.

Son conocidas desde hace mucho tiempo las intoxicaciones por setas venenosas y, más recientemente, las producidas por toxinas elaboradas por hongos contaminantes de alimentos (micotoxinas). Pero el grupo más importante en medicina es el constituido por hongos que producen infecciones clínicas, por crecer sobre estructuras queratinizadas (micosis superficiales) o tejido cutáneo y subcutáneo (micosis cutaneomucosas), o más profundamente (micosis sistémicas). Por último, pueden dar lugar a reacciones alérgicas más o menos graves. El papel de las infecciones fúngicas en los últimos decenios ha aumentado como consecuencia del abuso de la quimioterapia antibacteriana, que en sujetos con el sistema inmune alterado ha dado lugar a más infecciones y más graves por aquellos agentes «oportunistas».

CARACTERES GENERALES

Los hongos poseen una estructura celular eucariota y se han incluido dentro del reino *protista*, con las algas y protozoos entre los protistas superiores (v. cap. 1). Hoy, por sus caracteres morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y ecológicos forman un nuevo reino, *Fungi*.

A diferencia de las células bacterianas, los hongos poseen una pared que contiene quitina (formada por residuos de N-acetilglucosamina, unidos por enlaces β 1-4), glucano, mannano y otros polisacáridos; la membrana citoplásmica es rica en esteroles, y en el citoplasma existen mitocondrias, retículo endoplásmico y flujo citoplásmico. Por último, el núcleo posee membrana nuclear, con varios pares de cromosomas, y la reproducción puede ser por esporas (asexual) o sexual.

Pero los hongos se diferencian también de otras células eucariotas, como los vegetales (que son clorofílicos, con raíces, tallos y vasos), algas (clorofílicas), protozoos y animales (que no poseen pared celular recubierta de quitina o celulosa).

En resumen, los hongos se caracterizan por ser células eucariotas y heterotrofas (necesitan compuestos orgánicos como nutrientes), se presentan en forma de levaduras o hifas, poseen una pared rígida y se reproducen sexual o asexualmente. Se han definido como «talofitas eucariotas aclorofílicas».

Los hongos pueden ser unicelulares o multicelulares. Las *levaduras* son hongos unicelulares, de 2 a 4 μm, que se reproducen por gemación (fig. 69-1 A). Los *mohos* son hongos pluricelulares y están formados por estructuras tubulares llamadas *hifas*, que son sistemas tubulares comunicantes y ramificados, con muchos núcleos en el citoplasma, rodeado de una pared celular única y rígida; es una estructura cenocítica. Las hifas pueden ser tabicadas (con paredes o *septa*, que pueden poseer agujeros (fig. 69-1 B) o sifonadas (fig. 69-1 C); provienen de una espora original, que da lugar a un tubo germinal y éste, al filamento tubular (fig. 69-2). Excepcionalmente, los tabiques o *septa* cierran totalmente la luz del tubo (p. ej., *Geotrichum candidum*). La ramificación y extensión de las hifas por la zona preapical forman una masa entrelazada, como algodonosa, de hifas secundarias y terciarias, que se conoce con el nombre de *micelio*.

Las hifas pueden tener una serie de elementos con diversas misiones, como órganos apresorios (para fijación), depredadores (para captura), estolones (para búsqueda de nuevas zonas nutritivas), rizoides (que penetran en el sustrato primitivo para buscar alimento [fig. 69-5 D]), etc. La parte del micelio, que penetra en el sustrato y absorbe sustancias para la alimentación, se conoce como micelio *vegetativo*; la que se proyecta por encima de la superficie del sustrato se llama micelio aéreo o *reproductor*, porque tiene entre otras la misión reproductora o de dispersión de la especie, mediante *esporas*.

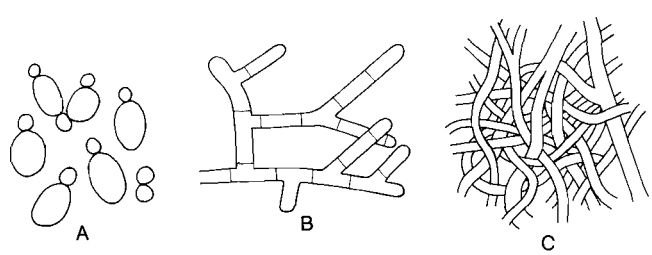


Fig. 69-1. Morfología de los hongos. A) Levaduras. B) Hifas tabicadas. C) Micelio de hifas sifonadas.

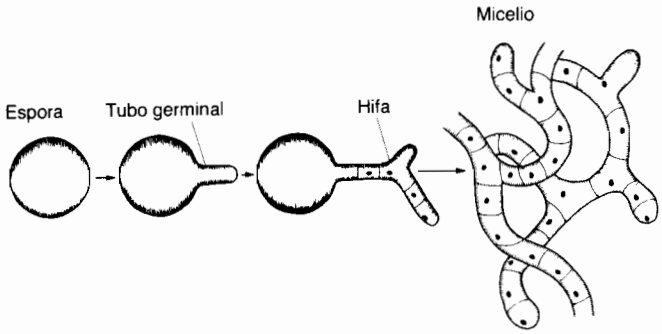


Fig. 69-2. Germinación de una espora.

Las esporas se forman por condensación del citoplasma con su contenido nuclear y están envueltas por una membrana interna o endosporia y otra externa o exosporia; pueden albergar una o varias células, divididas por septos, y poseen un poro germinativo de donde surgirá un nuevo elemento o hifa en el momento del desarrollo (fig. 69-2). Por su forma y superficie se distinguen diversos tipos de esporas (fig. 69-3). Pueden ser pigmentadas y proporcionar un determinado y característico color a la colonia o talo del hongo. Si se originan en el interior de una hifa, se denominan internas, y son externas si surgen en la superficie por un proceso directo de gemación y diferenciación, en los extremos de la hifa o sobre formaciones especializadas, llamadas cuerpos fructíferos. Las esporas son elementos de desarrollo y resistencia, y pueden tener carácter sexual o asexual. Los hongos se diferencian, identifican y clasifican por la estructura, mecanismo de formación y elementos formadores de las esporas; de ahí el interés de su estudio.

Además de crecer por esporas o crecimiento vegetativo de las hifas, algunas especies de hongos se desarrollan tras simple separación de una parte del micelio y reproducción posterior por gemación, como las levaduras; este tipo de células se llaman *oidia*.

Algunas especies de hongos son *dimorfas*, es decir, pueden existir en forma de levadura y pluricelulares. Así, ciertos hongos patógenos se encuentran libres en la naturaleza en forma micelial y aparecen en los tejidos humanos o cuando se incuban a 37 °C en forma de levadura (p. ej., *Histoplasma*, *Blastomyces*, etc.).

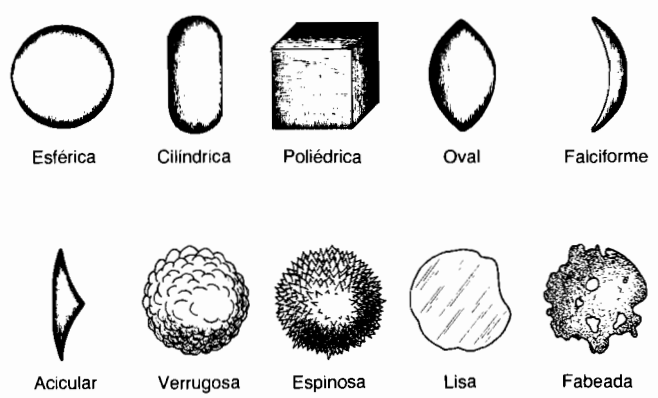


Fig. 69-3. Formas y superficie de las esporas asexuales.

METABOLISMO

Con respecto a la nutrición, la fuente de carbono puede actuar como «factor limitante» en el desarrollo de los hongos. Sin embargo, esta limitación no posee demasiada importancia, pues son capaces de obtener el carbono de los elementos más variados, como alcoholes, hidrocarburos, etc. Según la potencia enzimática de cada hongo, éste puede obtener el carbono de productos solubles (p. ej., azúcares) o insolubles (p. ej., celulosa, lignina, etc.).

El nitrógeno necesario para el desarrollo puede conseguirse de los aminoácidos, restos animados e incluso sustancias inorgánicas, como los nitratos. Otras sustancias inorgánicas, como el fósforo, azufre, potasio, magnesio, etc., se obtienen fácilmente y sus requerimientos son mínimos. Las necesidades en vitaminas son también muy escasas, y sólo algunos hongos las necesitan preformadas (p. ej., biotina, tiamina, piridoxina). Determinados tests de asimilación de nutrientes se han utilizado para la diferenciación de dermatofitos. Como se observa, las necesidades suelen ser muy escasas. Es que «un hongo se desarrolla en los lugares donde existe o existió crecimiento de otros seres vivos».

El suelo es el lugar más propicio para el crecimiento de los micelios, y de ahí que sea el hábitat natural de muchos hongos. El margen de temperatura en que pueden desarrollarse estos microorganismos oscila entre los 10 y 50 °C, y de ahí que puedan distinguirse especies mesofílicas (10-40 °C con un óptimo a 30 °C) y termofílicas (20-58 °C, con óptimo a 40 °C). No obstante, algunos hongos son termotolerantes, es decir, pueden crecer indistintamente a bajas y altas temperaturas; pero a veces las características de ambos cultivos son diferentes, lo que tiene gran interés diagnóstico.

Con respecto al pH, en el laboratorio, los hongos pueden desarrollarse entre 4,5 y 8. Ciertas especies son capaces incluso de crecer a pH 0,2, gracias a su capacidad de rebajar rápidamente la concentración de hidrogeniones del medio.

Los hongos son aerobios, es decir, necesitan el oxígeno como aceptor final de hidrogeniones en el proceso respiratorio. Sin embargo, existen algunas excepciones de especies que pueden obtener energía de procesos fermentativos o que son fermentativas estrictas al carecer de alguno o de todos los citocromos que intervienen en la cadena respiratoria; además, otras especies pueden utilizar nitratos como aceptores de electrones. Pero en ningún caso, el oxígeno es letal para estas especies, como ocurre en las bacterias anaerobias estrictas (p. ej., *Clostridium*).

Los hongos como seres heterótrofos (no son capaces de sintetizar hidrocarbonados con ayuda de la luz) necesitan en los medios de cultivo un azúcar como fuente de carbono y una peptona como fuente de nitrógeno; el pH suele ajustarse ligeramente ácido, y no debe faltar cierto grado de humedad. La temperatura se usa como carácter diferencial. Las colonias que crecen en los medios sólidos se denominan *talo* y en los hongos levaduriformes son similares a colonias bacterianas y en los filamentosos tienen un aspecto algodonoso o piloso, más o menos grande y coloreado o no.

Con respecto a otros agentes físicos y químicos, los hongos son sensibles sólo a los métodos de esterilización de las bacterias. Entre las sustancias químicas son fungicidas el yodo y los yodóforos (v. cap. 11 y tabla 11-3).

La cicloheximida inhibe una gran cantidad de hongos, pero no los dermatofitos, por lo que se añade a los medios de cultivo selectivos para dichos agentes.

Tabla 69-1. Tipos de reproducción en los hongos

Asexual
Gemación
Esporulación-germinación
Talosporas
Artrosporas
Blastosporas
Clamidiosporas
Estructuras especializadas
Esporangiosporas
Conidios
Aleuriosporas
Fialosporas
Fragmentación
Sexual
Ascosporas
Zigosporas
Oosporas
Basidiosporas
Parasexual

REPRODUCCION

La reproducción en los hongos puede ser asexual, sexual o parasexual, si bien en muchos casos se comparten varios mecanismos (tabla 69-1).

Reproducción asexual

Es el crecimiento a partir de un micelio o pseudomicelio primitivo, sin conjugación nuclear ni reducción cromática.

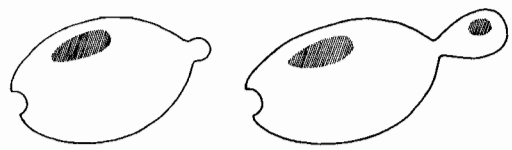


Fig. 69-4. Forma unicelular de levadura con sus cicatrices de nacimiento (cóncava) y gemación (convexa).

Se denomina estado imperfecto, mientras que los que poseen esporulación sexual se llaman hongos perfectos.

Puede ser de tres tipos: gemación, esporulación y fragmentación:

Gemación

Consiste en la formación de una yema en un punto de la célula madre; a medida que la nueva célula hija aumenta de tamaño, se separa de la madre y da lugar posteriormente a nuevas hijas por el mismo mecanismo. En el punto de gemación de la célula madre se produce la cicatriz de gemación convexa y en el punto de origen de la yema, la cicatriz de crecimiento, que es cóncava (fig. 69-4).

Esporulación-germinación

En ella se forman esporas, que luego germinarán en un medio adecuado. Si se desarrollan directamente de la célula vegetativa, se llaman talosporas; en otros casos, se desarrollan en estructuras especializadas que reciben diversos nombres.

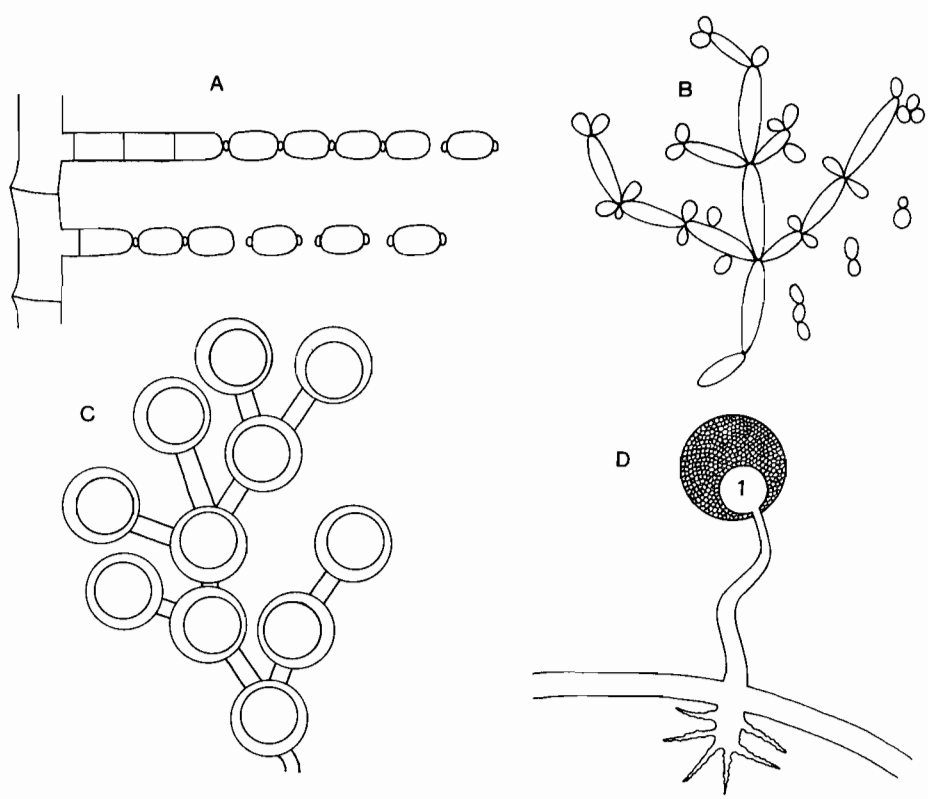


Fig. 69-5. Esporas asexuadas. A) Artrosporas. B) Blastosporas con formas de pseudohifas y pseudomicelio. C) Clamidiosporas. D) Esporangióforo con esporangiosporas en su interior, que muestra su hifa no tabicada y rizoide. 1) Columella *(Rhizopus)*.

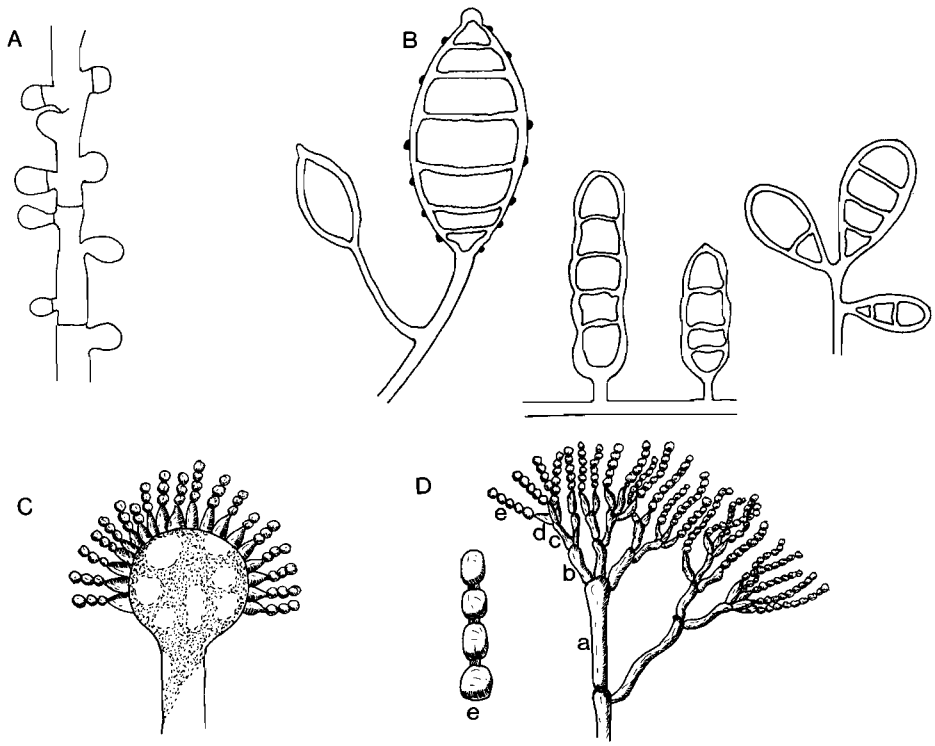


Fig. 69-6. Distintos tipos de conidias. A) Sésiles. B) Macroconidias de *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*. C) Microconidias de *Aspergillus*, D) Hifas en pincel, típicas de *Penicillium*; *a)* conidióforo; *b)* ramas; *c)* métulas; *d)* esterigmas; *e)* microconidias.

1. Las *talosporas* pueden ser de tres tipos: Las *artrosporas* son esporas internas (fig. 69-5 A) que surgen por segmentación de las hifas, tras dar lugar a células esporales rectangulares, de pared gruesa. Las *blastosporas* se producen por gemación; las yemas se alargan y no se separan formando una red ramificada (fig. 69-5 B). Son típicas de las levaduras, y los brotes sucesivos originan formas similares a las hifas, llamadas *pseudohifas* y que dan lugar a *pseudomicelios*. Las *clamidiosporas* son esporas internas que aumentan de tamaño y espesor con respecto a las hifas y se rodean de una gruesa pared (fig. 69-5 C); pueden ser terminales, intercalares o laterales; son también elementos de resistencia.

2. Entre las esporas que nacen en estructuras especializadas se encuentran las *esporangiosporas* que se forman dentro de una estructura sacular (esporangio) en los extremos de hifas no tabicadas (fig. 69-5 D), o ramas especializadas llamadas esporangióforos. Las *conidias* son esporas que surgen de las hifas por gemación y se liberan de ellas por abstricción; pueden surgir de una hifa cualquiera, y se llaman sésiles o laterales, o de ramas especializadas, llamadas conidióforos (fig. 69-6). Estas pueden estar muy especializadas, y se distinguen una vesícula, ramas, pequeñas pirámides o métulas, esterigmas, etc. La conidia terminal es la primera formada, y aparecen las otras entre ella y las anteriores. Si la espora no se separa por abstricción (conidia), sino por rotura de un septo, se denomina *aleuriospora*. Las conidias y aleuriosporas según su tamaño y según que sean uni o pluricelulares se clasifican en macroconidias, microconidias, macroaleuriosporas y microaleuriosporas. Las microconidias, unicelulares y pequeñas, pueden ser redondas, ovales, piriformes, etc. Las macroconidias, pluricelulares, suelen estar divididas por tabiques transversales y longitudinales o ser mureiformes. Otras veces, la estructura especializada tiene forma de vaso *(phialide)*, por cuyo extremo distal salen las *fialosporas* (fig. 69-7 A). La forma y disposición de las conidias son características de cada especie determinada (fig. 69-8); las clamidiosporas tienen capacidad de resistir condiciones adversas y germinar cuando se sitúen en un ambiente favorable. Las artrosporas y conidias estimulan la diseminación aérea de los hongos, ya que son dispersadas por el aire, al desprenderse del micelio.

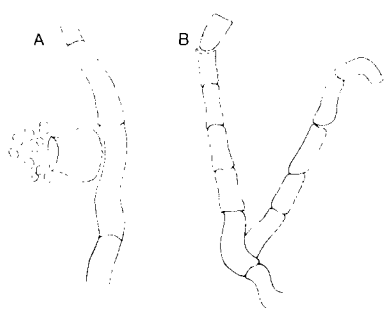


Fig. 69-7. A) *Phialide* con fialosporas. B) Fragmentación de hifas en *Geotrichum*.

Fragmentación

Las hifas pueden fragmentarse, y cada fragmento, tras crecimiento y regeneración, da una nueva colonia. Este mecanismo se usa en los subcultivos de laboratorio (figura 69-7 B).

Reproducción sexual

Es la producción de esporas por fusión de dos núcleos haploides sexualmente distintos. No es frecuente en los hongos patógenos humanos, por lo que se denominaron hongos imperfectos. Hoy día, se van conociendo algunas

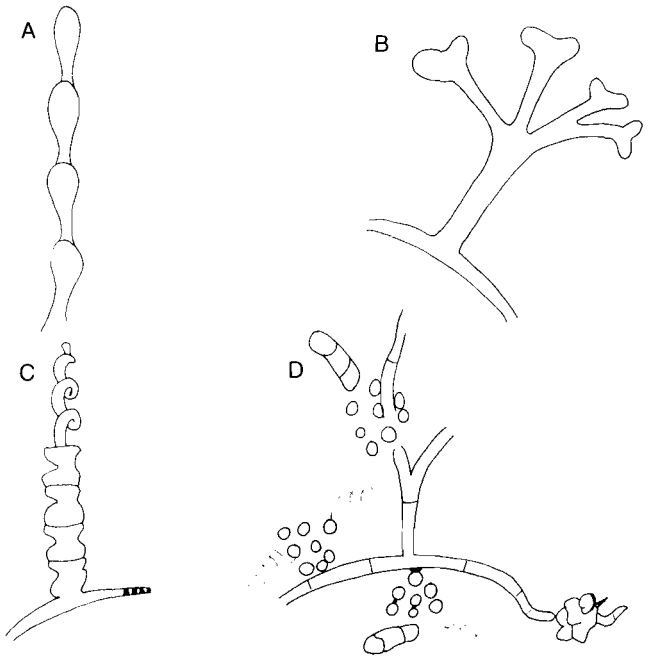


Fig. 69-8. Otras estructuras vegetativas en las hifas. A) Micelio en raqueta. B) Hifa terminal en candelabro (*T. schoenleinii*). C) Hifa peridial. D) Organos nodulares y en espiral o hifas enrolladas (*T. mentagrophytes*).

formas sexuadas de aquéllos, lo que ha dado lugar a una reestructuración taxonómica. Por esto, muchos hongos patógenos poseen dos nombres, uno el nombre imperfecto que fue el primero descrito y otro el nombre perfecto. Así, *Trichophyton mentagrophytes* es el estado asexual de *Arthroderma benhamiae* (tabla 69-2).

En esta reproducción, un núcleo haploide de una célula donante o macho, que se encuentra en el anteridio, penetra en el citoplasma de una receptora o hembra, que se encuentra en el ascogonio. Ambos núcleos se fusionan formando una célula diploide (zigoto), que por división meiótica da lugar a cuatro haploides; estos que se rodean de una gruesa cubierta constituirán las esporas. Cuando los gametos proceden del mismo micelio, se habla de homotalia, y si son de diferentes, se habla de heterotalia, y pueden surgir a veces fenómenos de incompatibilidad.

Los principales tipos de esporas sexuales son:

Ascosporas

Son el resultado de la unión de dos hifas; la pared celular entre ellas desaparece, ocurre la fecundación y se forman 4-8 esporas dentro de un saco o *asco*, encerrado a su vez en el *peritecio* (formación piriforme que alberga ascos con esporas que se liberan por un ostiolo u orificio apical) o en el *cleistotecio* (formación cerrada que contiene sacos con esporas, que sólo se liberan al romperse aquél) (figs. 69-9 D, E y F).

Zigosporas

Son producidas por la fusión de gametos de apariencia similar, formados en los extremos de las hifas (fig. 69-9 A y B).

Oosporas

Son producidas por la fusión de dos gametos desiguales, masculino y más pequeño (anteridio) y femenino (oogonio) (fig. 69-9 C).

Basidiosporas

Son esporas, generalmente en número de cuatro, que surgen por la unión de dos núcleos de una hifa, en una zona que se dilata y se denomina *basidio* o célula circular; los núcleos haploides se proyectan hacia fuera, adquieren citoplasma y forman las basidiosporas (fig. 69-10). Son típicos de las setas y hongos de los árboles.

Reproducción parasexual

Es un mecanismo raro, en el que las hifas se unen sin fusión nuclear posterior y da lugar a un *heterocarion* de núcleos haploides. En algunas ocasiones pueden conjugarse los núcleos y aparece un núcleo diploide heterozigótico. El hecho comprobado por primera vez en *Aspergillus nidulans* demuestra que la recombinación genética puede existir sin utilizar las células sexuales.

CLASIFICACION

El reino de los hongos (*Fungi*) se clasifica en dos grandes grupos: *Myxomycota*, en el que no se encuentran patógenos humanos, y *Eumycota*, en el que se distinguen cuatro subgrupos por la formación de esporas sexuales y que son de interés patógeno:

Zygomycotina

Son hongos filamentosos no tabicados (cenocíticos y multinucleados), que se reproducen por esporas sexuales del tipo zigosporas y oosporas. Son duros y de color negro y, cuando maduran, dan lugar en la parte terminal de las hifas aéreas a esporangio, esporangióforos y esporangiosporas inmóviles. Entre ellos se encuentran especies de hongos *Mucor* y *Rhizopus*, productores de ficomicosis, ficomicosis subcutánea y rinoficomicosis. Para algunos autores estos hongos se encontrarían en el grupo de los *Phycomycetes*.

Ascomycotina

Se caracterizan por micelios septados y ascosporas sexuales, y sus esporas asexuadas son del tipo conidia. La migración nuclear a lo largo de las hifas es posible por la existencia de unos agujeros o anchos poros en los septos intercelulares. Existen hongos levaduriformes en esta subdivisión. Entre ellos se encuentran los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, y el estado perfecto de patógenos humanos tan importantes como *Blastomyces, Histoplasma, Trichophyton, Microsporum* y *Candida*.

Basidiomycotina

Están caracterizados por un micelio septado y producción de basidiosporas sexuales. Los tabiques o septos en los *Ba-*

Tabla 69-2. Principales enfermedades por hongos en el hombre y sus agentes productores

Micosis	Enfermedad	Género y especie	Estado perfecto
Internas profundas o sistémicas	Criptococosis	*Cryptococcus neoformans*	*Filobasidiella neoformans*
	Blastomicosis	*Blastomyces dermatitidis*	*Ajellomyces dermatitidis*
	Coccidioidomicosis	*Coccidioides immitis*	
	Paracoccidioidomicosis	*Paracoccidioides brasiliensis*	
	Histoplasmosis	*Histoplasma capsulatum*	*Emmonsiella capsulata*
	Histoplasmosis africana	*Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*	
	Ficomicosis	*Rhizopus* spp.	
	Ficomicosis	*Absidia* spp.	
	Mucormicosis	*Mucor pusillus*	
	Candidiasis	*Candida albicans*	
	Candidiasis	*Candida* spp.	*Pichia* spp.*
	Aspergilosis	*Aspergillus fumigatus*	
	Aspergilosis	*Aspergillus* spp.	
	Geotricosis	*Geotrichum candidum*	*Endomyces geotrichum*
	Penicilosis	*Penicillium* spp.	
	Torulopsosis	*Torulopsis glabrata*	
	Rhodotorulopsosis	*Rhodotorula rubra*	
	Adiaspiromicosis	*Emmonsia* spp.	
	Fusariosis	*Fusarium* spp.	
Internas subcutáneas	Esporotricosis	*Sporothrix schenckii*	
	Lobomicosis	*Loboa loboi*	
	Cromomicosis	*Phialophora* spp.	
	Cromomicosis	*Fonsecaea* spp.	
	Cromomicosis	*Cladosporium carrioni*	
	Rinosporidiosis	*Rhinosporidium seeberi*	
	Maduromicosis (micetomas)	*Madurella* spp.	
	Maduromicosis (micetomas)	*Monosporium apiospermum*	*Allescheria boydii*
	Ficomicosis	*Rhizopus* spp.	Subdivisión *Zygomycotina*
	Ficomicosis	*Absidia* spp.	
	Conidiobolomicosis	*Conidiobolus coronatus*	
	Basidiobolomicosis	*Basidiobolus haptosporus*	
	Rinoentomoftoromicosis	*Entomophthora coronata*	
	Cromomicosis cerebral	*Cladosporium trichoides*	
	Feoesporotricosis	*Phialophora* spp.	
	Cercosporomicosis	*Cercospora apii*	
Externas cutáneas	Dermatofitosis	*Epidermophyton floccosum*	*Nannizzia gypsea*
	Dermatofitosis	*Microsporum gypseum*	*Nannizzia incurvata*
	Dermatofitosis	*Microsporum audouinii*	
	Dermatofitosis	*Microsporum canis*	*Nannizzia otae*
	Dermatofitosis	*Microsporum fulvum*	*Nannizzia fulva*
	Dermatofitosis	*Microsporum persicolor*	
	Dermatofitosis	*Tricophyton mentagrophites*	*Arthroderma benhamiae* *Arthroderma vanbreuseghemii*
	Dermatofitosis	*Tricophyton rubrum*	
	Dermatofitosis	*Tricophyton schoenleinii*	
	Dermatofitosis	*Tricophyton tonsurans*	
	Dermatofitosis	*Tricophyton violaceum*	
	Dermatofitosis	*Tricophyton verrucosum*	
	Dermatofitosis	*Tricophyton ajelloi*	*Arthroderma uncinatum*
	Dermatofitosis	*Microsporum* spp.	*Nannizzia* spp.*
	Dermatofitosis	*Tricophyton* spp.	*Arthroderma* spp.*
	Dermatofitosis	*Candida* spp.	
	Dermatofitosis	*Botryomyces caespitosus*	
Externas superficiales	Tiña versicolor	*Pityrosporum orbiculare (M. furfur)*	
	Tiña negra palmar	*Cladosporium werneckii*	
	Piedra negra	*Piedraia hortai*	
	Piedra blanca	*Trichosporon cutaneum (T. beigelii)*	

*Sólo se ha demostrado el estado perfecto en algunas especies.

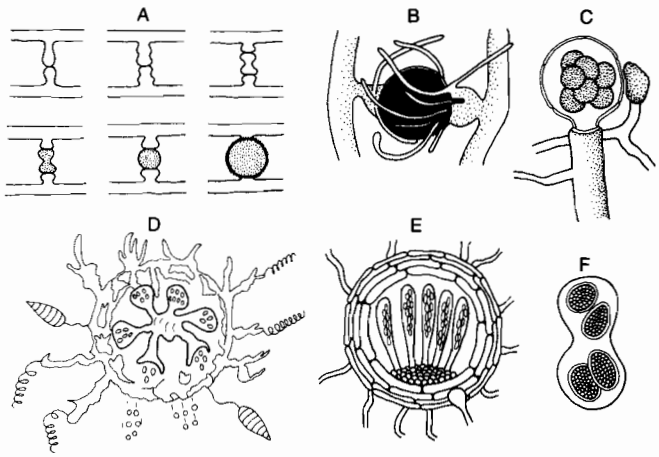


Fig. 69-9. Reproducción sexual de los hongos. A) Zigosporulación en *Mucor*. B) Zigosporo en *Absidia*. C) *Oogonium* con *antheridium* en *Saprolegnia*. D) *Cleistothecium* en *Emmonsiella*. E) *Perithecium* de *Neurospora*. F) Ascosporas de *Saccharomyces*.

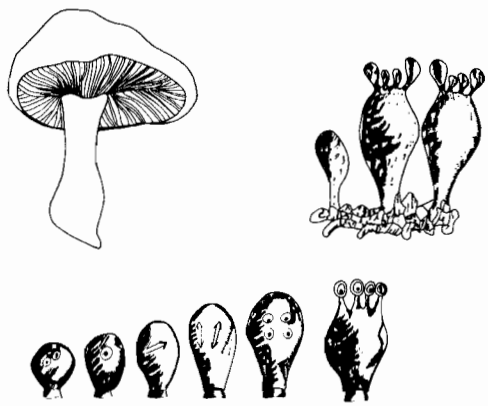


Fig. 69-10. Basidiosporas y su mecanismo de formación.

sidiomycotina impiden el paso de núcleos de uno a otro lado. Se ha comprobado que en estas células existe una estructura especial que comprende el doliporo y el parentesoma, que permiten el paso de material nuclear a través de un puente externo. Prototipo de patógeno es *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporum*, etc.

Deuteromycotina o Fungi imperfecta

Comprenden hongos filamentosos septados y levaduras unicelulares, cuyo estado sexual perfecto no se conoce. Son formas haplontes de especies heterotálicas, que no han hallado su forma opuesta o han perdido su capacidad de reproducción sexual. Comprenden un grupo muy importante de hongos patógenos para el hombre. La reproducción asexual es por cualquiera de los mecanismos antes citados.

Dentro de este subgrupo se distinguen tres clases: *Blastomycetes* (que incluyen las levaduras y hongos miceliares relacionados con éstas), *Coelomycetes* (que desarrollan sus conidios en fructificaciones especiales) y los *Hyphomycetes* (que se caracterizan por formar micelio del que nacerán las células reproductoras a partir de las hifas o sus agregados); en estos últimos se incluyen los principales patógenos humanos. Cada una de estas clases comprenden familias, géneros y especies que se diferencian por el conidióforo, las células conidiógenas y las conidias. Los principales hongos patógenos se recogen en la tabla 69-2, con la enfermedad que producen y el estado perfecto, en los que se conoce.

ACCION PATOGENA

Cuatro son los mecanismos descritos, por los que los hongos pueden afectar al hombre.

Micetismos o envenenamientos

Ocurren por la ingestión de setas venenosas.

Micotoxicosis

Son afecciones humanas o animales que tienen lugar tras la ingestión de alimentos parasitados por ciertos hongos que producen toxinas. La más característica es la aflatoxicosis, producida por la aflatoxina de *Aspergillus flavus*, que, además, es cancerígena experimental.

Hipersensibilidad a los hongos

Se debe a la inhalación de ciertas especies que causan cuadros, especialmente de tipo asmático. Así, tenemos el denominado «pulmón de los granjeros», en relación con *Micromonospora faeni*.

Micosis o enfermedades por parasitación humana de los hongos

Pueden ser internas o externas:

Internas

Afectan estructuras no queratinizadas. A su vez, pueden ser profundas y subcutáneas. Las *profundas* afectan órganos y vísceras internas. Su puerta de entrada suele ser la respiratoria, desde donde pueden extenderse al resto del organismo. Las *subcutáneas* afectan la piel, tejidos subcutáneos, fascias e incluso huesos, con formación de pus y abscesos. Se estudian en el capítulo 71.

Externas

Son las que afectan estructuras queratinizadas. Pueden ser *cutáneas*, si se afectan la epidermis y sus anejos (pelos, uñas), y *superficiales*, que afectan sólo los cabellos y las células cornificadas más externas del epitelio de la piel. Se estudia en el capítulo 70.

En la tabla 69-2 se recogen las principales micosis humanas.

Normalmente, los hongos crecen y se multiplican por los espacios intercelulares, excepto algunos como *H. capsula-*

tum, que invade las células del sistema reticuloendotelial, en cuyo interior se multiplica. Actúan por competencia metabólica y acción tóxica irritativa y de hipersensibilidad. *Cryptococcus neoformans* posee una cápsula, pero no se han demostrado en los hongos agresinas o toxinas específicas. El papel patógeno de ciertas enzimas, como las queratinasas, es discutido, ya que las poseen muchos hongos no patógenos; las elastasas (*Microsporum*, *Trichophyton*) desempeñarían un papel más importante, así como la colagenasa de *T. schoenleinii*. Las infecciones suelen mostrar un curso lento, y la reacción inflamatoria crónica tisular es a veces muy patente.

Aunque la micología médica estudia unas cuantas infecciones de la piel y sistémicas, una nueva era patogénica se ha abierto para los hongos con las infecciones *oportunistas*, que a partir del suelo, el aire o los propios sujetos encuentran un medio idóneo para la colonización, penetración e invasión de aquéllos. Son las *infecciones en el huésped comprometido*, en el que los procesos inespecíficos y específicos de defensa e inmunidad se encuentran disminuidos. Es el caso de enfermos de leucemia, linfopatías malignas, diabetes, etc. y de los sometidos a tratamientos con citostáticos, inmunodepresores, radiaciones, etc. Estos sujetos, que hoy son mantenidos con vida mucho más tiempo, muestran cuadros de micosis, que en este sentido son verdaderas enfermedades del progreso científico. De ahí que el concepto de hongo patógeno o saprofito, como veremos en la micología médica especial, está en relación clara con el estado previo del huésped. Efectivamente, cualquier hongo para volverse patógeno necesita estas tres premisas: colonizar un epitelio, penetrar en él (piel, boca, vías respiratorias, tubo digestivo) y encontrar un terreno favorable para su desarrollo. Este terreno variable hace que cualquier hongo sea patógeno o saprofito, es decir, los hongos actuarán o no según el individuo y no según sus propias características.

Como ejemplos de hongos denominados *oportunistas* se incluyen los géneros *Candida*, *Aspergillus*, *Mucor*, etc., e incluso los más raros, como *Torulopsis glabrata* y *Petriellidium boydii* (cap. 72).

Como factores predisponentes a las micosis están la edad, el sexo, la profesión, el nivel socioeconómico de la población, etc.

Edad

En los lactantes se producen las micosis superficiales de los pliegues (dermatitis de los pañales) y de la mucosa bucal por *Candida albicans* o especies vecinas favorecidas por la maceración de la orina en esas zonas.

En los niños mayores y hasta la pubertad predominan las tiñas tricofíticas y microspóricas del cuero cabelludo. Estas tiñas curan espontáneamente con la madurez sexual al hacer su aparición ácidos grasos de cadena larga que son fungistáticos.

Después de la pubertad suelen producirse intertrigos dermatofíticos, especialmente en los espacios interdigitales de los pies. Son frecuentes las tricoficias de la barba y bigote, así como la tricomicosis axilar y el eritrasma.

La mayoría de las micosis profundas son más frecuentes entre los 20 a 50 años, aunque las micosis que se adquieren por inhalación (histoplasmosis y coccidioidomicosis) no respetan edad.

Sexo

Las micosis superficiales atacan por igual ambos sexos, con una ligera diferencia a favor del masculino (la perionixis por *Candida albicans* es casi exclusiva de la mujer). En las micosis profundas, sin embargo, la relación de la incidencia de la mujer al hombre puede ser de 1/9 ó incluso mayor aún.

Profesión

Trabajadores rurales y veterinarios pueden contraer por contacto con animales ciertas micosis superficiales producidas por *Trichophyton* y *Microsporum*. Asimismo, los trabajadores rurales están más expuestos a los micro y macrotraumatismos, que son la puerta de entrada de las micosis profundas, de fuente de infección exógena. Los indígenas que van semidesnudos están más expuestos a los traumatismos infectantes.

Condiciones higiénico-sociales

El hacinamiento y falta de higiene facilitan el contagio de las micosis superficiales. Fatiga y alimentación insuficiente o inadecuada son factores predisponentes para ciertas micosis profundas.

Es muy importante el factor agregación, y por esto se afectan escuelas, colegios, orfelinatos, etc., de forma epidémica y aparecen casos secundarios en las familias de los enfermos.

La humedad suficiente y la alta temperatura desempeñan un papel importante en diversas micosis de piel y zonas de pliegues cutáneos (p. ej., el pie de atleta).

Alteraciones del estado general

Lactantes y adultos con trastornos digestivos, inmunológicos y metabólicos, diabetes, cáncer, sífilis y tuberculosis, así como el uso prolongado y en grandes dosis de antibióticos o corticoides predisponen a las infecciones por hongos y levaduras.

INMUNOLOGIA

El estudio de la respuesta inmune frente a las infecciones por hongos representa un problema de gran complejidad, en el que destacan los siguientes aspectos:

1. Los hongos se encuentran muy extendidos en las colectividades humanas. Unos constituyen flora normal de mucosas o epitelios (*Candida*). En otros se comprueba que más del 85 % de la población se ha infectado con ellos (*Coccidioides*, *Histoplasma*).
2. Existe una clara relación entre algunas micosis y otras enfermedades no infecciosas. Así, se ha demostrado en individuos afectos de la enfermedad de Hodgkin (*Criptococcus*), diabetes (ficomicosis) y leucemia (el 60 % de estos enfermos

mueren de procesos infecciosos por hongos variados, p. ej., *Aspergillus*). Los pacientes sometidos a terapia inmunosupresora están predispuestos a infecciones por *Aspergillus* o *Criptococcus*.

3. Las alteraciones en las defensas químicas inespecíficas, como cambios en el pH vaginal (p. ej., debido al uso de contraceptivos orales), ácidos grasos de la piel, ácido clorhídrico gástrico, etc., predisponen a la infección por hongos.

4. La desaparición de la flora saprofita normal en las cavidades (boca, recto, vagina), producida fundamentalmente por antibióticos, favorece las micosis.

5. Las enfermedades que comportan una alteración morfológica o funcional de los leucocitos polimorfonucleares (Chediak-Higashi, déficit de producción de catalasa) favorecen las micosis.

6. Las enfermedades que cursan con hipogammaglobulinemia o déficit de formación de los linfocitos T, o T y B favorecen la infección por hongos.

7. Los hongos son ricos antigénicamente (se han descrito 78 antígenos en *C. albicans*), lo que da lugar a una respuesta humoral y celular. Existe una respuesta humoral con producción de anticuerpos en las infecciones micóticas, demostrable a partir de los 10-14 días de la puesta en contacto con el antígeno. Las inmunoglobulinas pueden ser de tipo IgG, IgA o IgM. Su valor diagnóstico y pronóstico parecen indudables, pero el protector es muy discutido.

8. Existe una clara hipersensibilidad de base celular en las micosis, que se demuestra por:

a) Aparición de lesiones cutáneas secundarias (dermatofítides) sin hongos, en sujetos con lesiones fúngicas primarias producidas por dermatofitos.

b) Reacciones intradérmicas frente a más de 10 preparados antigénicos procedentes de hongos productores de micosis superficiales y profundas.

c) Demostración por test *in vitro* de inhibición de la migración de los macrófagos o transformación blástica de linfocitos sensibilizados en presencia del antígeno.

d) Posibilidad de una hiposensibilización en sujetos hiperérgicos, mediante la inoculación de antígenos muy diluidos.

De todas formas, los antígenos de los hongos plantean problemas por ser poco inmunógenos (*Cryptococcus neoformans*) y existir frecuentes comunidades antigénicas entre unas especies y otras, así como por la dificultad de su preparación y estandarización.

DIAGNOSTICO

Además del estudio clínico, que es muy orientativo, en el laboratorio puede realizarse un diagnóstico directo e indirecto.

Directo

En él se sigue la marcha general de toma de la muestra, observación directa, cultivo, identificación e inoculación experimental.

Toma de la muestra

En el caso de pelos se estudiará la lesión con lupa, se tomarán los lesionados con unas pinzas y se arrancarán con los folículos, las escamas y costras, en los bordes de las lesiones recientes, evitando las zonas con productos tópicos, pomadas, etc. En pelos y escamas puede tener interés la recolección bajo lámpara ultravioleta de Wood de 3.650 Å, que torna fluorescentes las lesiones parasitadas por *T. schonleinii* y *P. orbiculare*. Las uñas se rasparán profundamente y se efectuará la toma de la zona inflamada y engrosada, de color amarillo verdoso. En las perionixis se tomarán escamas del repliegue supraungueal y el pus situado entre el pliegue y la uña. En micosis profundas, la toma se realizará directamente de las lesiones (intraoperatorio) o del esputo, heces, secreciones, etc., según localización de aquéllas, con la ayuda de un hisopo si es preciso. En todo caso deberán evitarse las contaminaciones bacterianas, que dificultan el crecimiento de los hongos, en especial *Pseudomonas aeruginosa* que lo inhibe claramente, por lo que puede recomendarse en pus, esputos o heces mezclar un antibiótico del tipo de penicilina, estreptomicina o cloranfenicol. El transporte es aconsejable en tubos o frascos estériles y a temperatura ambiente o fría.

Observación directa

Se realiza en fresco y al microscopio óptico o de fases, se coloca el material entre porta y cubre, con unas gotas de potasa al 10-20 %, y se calienta suavemente para no alterar las formaciones micóticas ni producir artefactos. Permite la observación no teñida de todos los elementos estructurales (hifas, esporas, etc.), vueltos transparentes por la potasa. Esta puede ser sustituida por antiformina, dimetil-sulfóxido o lactofenol con hidrato de cloral o azul de algodón.

No suelen emplearse tinciones (los hongos aparecen como grampositivos, aunque su morfología se altera profundamente con esta técnica), a excepción de cuando quieren demostrarse en cortes de tejidos, paredes de abscesos o tejidos granulomatosos. Se recomiendan entonces las técnicas histopatológicas con ácido peryódico (Hotckkiss-MacManus, Gridley) o de plata (Gomori) o el método de Hills, que combina el tratamiento de la potasa en frío, con el clásico del ácido peryódico de Schiff.

Cultivos

Las muestras deben manipularse con sumo cuidado para no contaminarlas y se siembran en cámara de flujo laminar. Los medios deben secarse previamente unos 15 minutos a 37 °C en la estufa. La siembra se hace en agar inclinado en tubos bien cerrados a rosca y con celofán, o en placas también cerradas con cinta plástica.

Se utilizan medios que dificulten el desarrollo de hongos contaminantes y bacterias. Por esto, aunque crecen en agar-sangre, se utiliza universalmente el *agar-Sabouraud*, que posee peptona (10 g/l), y, como fuente hidrocarbonada, miel, glucosa, dextrosa o maltosa. Se ajusta pH 5,2-5,6 y se pueden añadir bacteriostáticos, como penicilina, cloranfenicol, estreptomicina o tetraciclina. El medio *Sabouraud-actidiona* contiene 0,1-0,5 g de cicloheximida por litro, que

inhibe el crecimiento de *Penicillium, Aspergillus, Mucor*, etc., sin afectar los patógenos, con excepción, muy importante, de *C. neoformans, A. fumigatus, M. apiospermum* y *C. tropicalis*. También pueden añadirse fungicidina, verde brillante o violeta de genciana. En términos generales, para dermatofitos se utiliza el agar-Sabouraud con antibióticos (el más utilizado es el agar-Sabouraud-cicloheximida-cloranfenicol) y para el resto de los hongos, una placa de Sabouraud simple y otra de agar-sangre.

La mayoría de los hongos patógenos crecen lentamente, y se necesitan de 4 a 6 semanas de incubación de los medios. La morfología de las colonias depende del tipo de medio de cultivo. Los medios se incuban a 25 °C, pero no olvidemos que los hongos dimórficos crecen como levaduriformes a 37 °C y como filamentosos a 25 °C (*Histoplasma, Blastomyces*, etc.). Algunas especies de *Candida* y *Trichophyton* crecen mejor a 37 °C que a 25 °C.

Una vez aparecidas las colonias, se estudiará su morfología (superficie, borde, color y presencia de pliegues), color y consistencia, y se observará el color de su reverso. Una porción de aquéllas se resiembra en otra placa nueva y otra se estudiará entre porta y cubre, para comprobar al microscopio las hifas, esporos y demás elementos morfológicos. Para la mayoría de los dermatofitos son muy utilizados también los microcultivos en porta, que permiten acelerar el diagnóstico. Los medios de cultivo a base de arroz, maíz, patata, tomate, etc. son muy utilizados para estimular la esporulación.

Identificación

Por los caracteres macroscópicos de las colonias y la demostración microscópica de los órganos fructíferos, esporas, conidias, etc., se realizará la identificación de la especie aislada.

Las actividades metabólicas son poco utilizadas en el diagnóstico de las micosis, a excepción de la diferenciación de especies del género *Candida*. En los dermatofitos se emplearán los tests nutricionales, según los cuales se distinguen las especies por la utilización o no de fuentes de carbono y de nitrógeno, así como la capacidad de hidrolizar la urea, caseína, almidón, gelatina y tirosina. El auxonograma (sustancias que son capaces de asimilarse) y el zimograma (estudio del poder fermentativo) son de gran utilidad en *Candida*.

Hoy día existen comercializadas galerías de medios de cultivo para el diagnóstico diferencial de levaduras (*Candida* sp., *Torulopsis, Cryptococcus, Rhodotorula, Trichosporon* y *Geotrichum*), así como auxonogramas que confirman la identificación del hongo levaduriforme aislado.

El estudio histopatológico de las lesiones causadas por hongos profundos es de gran valor diagnóstico en muchos de los casos.

Inoculación experimental

Se ha usado para el aislamiento de hongos patógenos, cuando el ambiente está muy contaminado. Los animales más utilizados son el cobayo y el conejo (*C. albicans*). En las micosis profundas se utilizan las vías intraperitoneal, intravenosa e incluso intracerebral (*Cryptococcus*), mientras que, en las superficiales, la inoculación se realiza por escarificación en la piel, previo rasurado.

Indirecto

La demostración de anticuerpos circulantes no posee gran valor, aparte los problemas de purificación y diferenciación de antígenos. Existen preparados a partir de *Histoplasma, Blastomyces, Candida, Coccidioides, Sporothrix, Aspergillus, Cryptococcus, Paracoccidioides*, etc., para reacciones de gelprecipitación, aglutinación, látex, fijación del complemento, inmunoelectroforesis y ELISA. Las técnicas de inmunofluorescencia son de interés en algunas micosis profundas. Resulta más importante la demostración de hipersensibilidad celular mediante reacciones intradérmicas, como las existentes frente a la tricofitina, histoplasmina, coccidioidina, candidina, etc. Estos tests pueden servir no sólo para el diagnóstico de la infección por hongos, sino también con fin pronóstico y epidemiológico.

TRATAMIENTO

Los quimioterápicos antifúngicos más importantes son los siguientes:

Griseofulvina

Está producida por *Penicillium griseofulvum*; es muy efectiva para los dermatofitos por vía oral. Es fungistático y actúa acumulándose en la queratina en formación y no sobre las zonas queratinizadas infectadas; por esto debe ir acompañada de corte del pelo y lavado de las lesiones para desprender aquéllas, y, además, utilizarse de 3 a 12 semanas según el agente causal y la localización. La dosis usual es de 25 mg/kg, repartidos en 2 a 4 tomas, y es poco tóxica.

Derivados imidazólicos

El miconazol, econazol, isoconazol, el clotrimazol y el ketoconazol poseen un amplio espectro antifúngico de aplicación local y son útiles tanto en dermatofitos como en candidiasis y micosis profundas.

Derivados poliénicos

La anfotericina B, producida por *Streptomyces nodosus*, es un antibiótico poliénico, de uso en micosis sistémicas y subcutáneas. Por su escasa absorción digestiva se usa en inyección intravenosa (lenta y a dosis progresiva) y es tóxica para los hematíes y células renales. Está indicada en sepsis y meningitis por *Candida* y en las micosis profundas (v. cap. 71).

Nistatina

Es otro antibiótico poliénico obtenido de *Streptomyces nursei*; actúa sobre los esteroles de la membrana citoplásmi-

ca de las especies de *Candida* y puede utilizarse por vía oral, tópica en mucosas y hasta en aerosoles. Requiere para ejercer su acción el contacto con la lesión candidiásica. También es útil en *Cryptococcus, Histoplasma* y *Blastomyces.*

5-Fluorocitosina

Es una pirimidina fluorada de uso oral, que ha demostrado buena actividad en infecciones por *Cryptococcus, Candida* y otras micosis profundas.

Son clásicas las tinturas astringentes con ácido benzoico (5 %) y salicílico (3 %), soluciones yodadas y pomadas con undecilato de cinc o tolnaftato, la violeta de genciana, los detergentes catiónicos, jabones con azufre, selenio o triclorocarbenilida, con laurilsulfato sódico o povidona yodada. Coadyuvan en el tratamiento antifúngico. La hidroxiestilbamidina sólo es útil en infecciones por *Blastomyces dermatitidis.*

Agentes terapéuticos en experimentación

Los agentes terapéuticos en experimentación son la hamicina, saramicetina, tricomicina, candicidina, pimaricina, etcétera.

Factor de transferencia

El tratamiento con factor de transferencia ha dado muy buenos resultados en enfermos con coccidioidomicosis y candidiasis crónica mucocutánea.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Micosis externas

Las *micosis externas* pueden tener una triple cadena epidemiológica (*v.* cap. 70, «Epidemología»), ya que los hongos productores pueden ser de origen:

Geofílico

El hábitat habitual es la tierra, el suelo. Diversas especies de los géneros *Tricophyton* y *Microsporum* viven en el suelo desde donde contagian al hombre y animales, que se ponen en contacto con ella *(T. gypseum)* o que a través del polvo inhalan esporas. La temperatura del suelo, la situación fitogeográfica y el *humus* influyen en la supervivencia de estas especies.

Zoofílico

Se trata de dermatofitos que habitan en los animales, donde pueden ser endémicos y contaminar al hombre que se pone en contacto con ellos. El gato es el animal que más micosis de este tipo transmite, seguido del perro, bóvidos, óvidos, équidos, suinos, aves, conejos, roedores silvestres, etc. Las especies de hongos implicadas son de los géneros *Trichophyton* y *Microsporum* (p. ej., *M. canis*).

Antropófilo

Son especies adaptadas al hombre y transmitidas por contacto directo. Es muy posible que estas especies fueran de origen animal y paulatinamente se hayan adaptado al hombre; son ejemplos *T. tonsurans* y *M. audoinii.* El contagio puede efectuarse por fomites, como peines, tijeras, objetos de barbería, cepillos, etc.

Micosis profundas

Las *micosis profundas* pueden ser *exógenas* (*Coccidioides, Histoplasma, Blastomyces*, etc.), a partir de hongos del suelo que penetran por inhalación o traumatismos abiertos, o *endógenas (C. neoformans),* cuando se trate de flora previamente existente en la piel o mucosas de los individuos. En cada agente se estudiará el origen de la infección.

La profilaxis general en las micosis se basa en el diagnóstico y tratamiento precoces, aislamiento domiciliario de los casos (tiñas), higiene personal y de los objetos de aseo, desinfección de suelos de duchas y vestuarios (pie de atleta), etc. Vacunas experimentadas con gran éxito en animales frente a *T. verrucosum* y *C. immitis* están lejos de su uso en clínica humana.

La realización de exámenes sistemáticos en las zonas endémicas y el estudio y control de la distribución de los hongos patógenos en los enfermos, animales y suelo permitirán un mejor conocimiento de las micosis en las poblaciones.

FICOLOGIA MEDICA

En los últimos años se ha podido comprobar el papel que ciertas *algas* pueden desempeñar en la producción de cuadros clínicos.

Dentro de las *Pirrofitas,* o algas flageladas, se han descrito ciertos géneros, como *Gonyaulax* y *Prymnesium,* que dan cuadros de mitilotoxismo o intoxicación por mejillones, en el que junto a trastornos digestivos aparecen cuadros paralíticos producidos por las toxinas elaboradas por las algas y almacenadas en gran cantidad en los moluscos.

Dentro de las *Clorofitas* o algas verdes, el género *Prototheca* ha demostrado poseer un papel patógeno oportunista en sujetos inmunodeprimidos, con dos tipos de cuadros clínicos, localizados y sistémicos. Como especies responsables se han descrito *P. wickerhamii* y *P. zopfii.* Las formas de prototecosis más frecuentes halladas son la cutánea, una epidermitis atrófica, y la articular, apareciendo bursitis olecraneana.

BIBLIOGRAFIA

Al-Doory, Y.: Laboratory Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia, 1980.

Casal, M.; Gutiérrez J., y Clemente, J.: Actividad *in vitro* de framicetina y neomicina frente al género *Prototheca.* Enf. Inf., 3, 115,-117, 1983.

Conant, N. F.; Smith, D. T.; Baker, R. D., y Callaway, J. L: Micología, 3.ª ed. Interamericana, México, 1972.

Dulanto, F.: Dermatología médico-quirúrgica, tomos I y II. Anel, Granada, 1982.

Emmons, C. W.; Binford, C. H.; Utz, J. P., y Kwon-Chung, K. J.: Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia, 1977.

Lehrer, R. I.; Howard, D. H.; Sypherd, P. S.; Edwards, J. E.; Segal, G., y Winston, D. J.: Mucormycosis. Ann. Intern. Med., 93, 93-108, 1980.
Peña, J.: Micología clínica. Ciencia, Madrid, 1983.
Rippon, J. W.: Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes, 2.ª ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1982.
Zapater, R. C.: Micología médica. El Ateneo, Buenos Aires, 1981.

Capítulo 70

Hongos productores de micosis superficiales y cutáneas

Gonzalo Piédrola-Angulo

Se denominan micosis superficiales aquellas que afectan las capas más externas de la epidermis y el pelo. Tienen mayor importancia las micosis externas cutáneas, que afectan toda la epidermis, pelos o uñas y se conocen como dermatofitosis o tiñas.

TIÑAS

Las micosis cutáneas o tiñas son lesiones causadas por hongos que afectan los tejidos queratinizados (piel, pelos y uñas), sin invadir zonas más profundas. Tres géneros principales son los causantes: *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*, incluidos clásicamente dentro de los hongos imperfectos *(Deuteromycotina)*, aunque en algunas especies se ha demostrado ya su estado perfecto, dentro de *Ascomycotina*. Estos dermatofitos son de distribución mundial, aunque existen variaciones regionales y otras en relación con la fuente de infección animal, humana o telúrica.

Clínica

Las dermatofitosis o tiñas se denominan clínicamente por su localización en el cuerpo humano o por alguna lesión característica (p. ej., querion). Aunque cualquier especie puede dar lugar a las lesiones, existen ciertas preferencias de localización, que se recogen en la tabla 70-1. Pueden afectar regiones pilosas, piel lampiña o uñas.

Pelos

Las infecciones en el cuero cabelludo *(tinea capitis)* comienzan por la capa córnea del epitelio, desde donde se extienden a los folículos pilosos. Las hifas rodean e invaden el pelo y desde aquí crecen hacia el área de queratogénesis. El pelo continúa su crecimiento y las hifas se rompen en largas cadenas de artrosporas, en unas especies en el interior del pelo *(endothrix)*, pero más frecuentemente en el exterior, es decir, rodeándolo *(ectothrix)*. A las 2-3 semanas, el pelo debilitado se rompe dejando un punto negro en el interior del folículo (infecciones *endothrix*) o una vaina de 2-3 mm de color grisáceo en la zona proximal del pelo, que no es otra cosa que las esporas que lo envuelven *(ectothrix)*.

En todo caso, aparecen una o varias zonas de alopecia (fig. 70-1) secas y difusas, pero pueden ir acompañadas de eritema, edema o formación de vesículas; si esto ocurre y las lesiones se vuelven húmedas o muy inflamatorias, se habla de querion (del griego, panal), como sucede en las in-

Tabla 70-1. Principales cuadros clínicos producidos por dermatofitos

Enfermedad	Localización	Otros datos clínicos	Especies productoras más frecuentes
Tinea capitis	Cuero cabelludo	Lesiones circulares con pelos cortos y rotos en su interior	*M. audouinii*, *M. canis*, *M. gypseum*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*
Tinea favica	Cuero cabelludo	Típicas cazoletas fávicas y gran reacción inflamatoria	*T. schoenleinii*
Tinea barbae	Pelos de la barba	Lesiones rojizas y edematosas	*T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. verrucosum* y *T. violaceum*
Tinea corporis	Zonas lampiñas	Lesiones circulares rojizas y crecientes («tiña circinada»)	*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* *M. canis*, *M. gypseum*, *M. audouinii*
Tinea cruris	Ingles	Lesión pruriginosa, rojiza y creciente	*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *E. floccosum*
Tinea pedis	Espacios interdigitales del pie	Prurito, eritema, fisuras y vesículas («pie de atleta»)	*T. rubrum*, *T. mentagrophytes* (var. *interdigitale*), *Microsporum* spp., *E. floccosum*
Tinea imbricata	Zonas lampiñas	Lesiones concéntricas crecientes	*T. concentricum*, exclusivamente
Tinea unguium	Uñas	Uñas deslustradas y friables, y onicomicosis	*T. rubrum*, *T. mentagrophytes* (var. *interdigitale*)

Fig. 70-1. Area de alopecia por tiña.

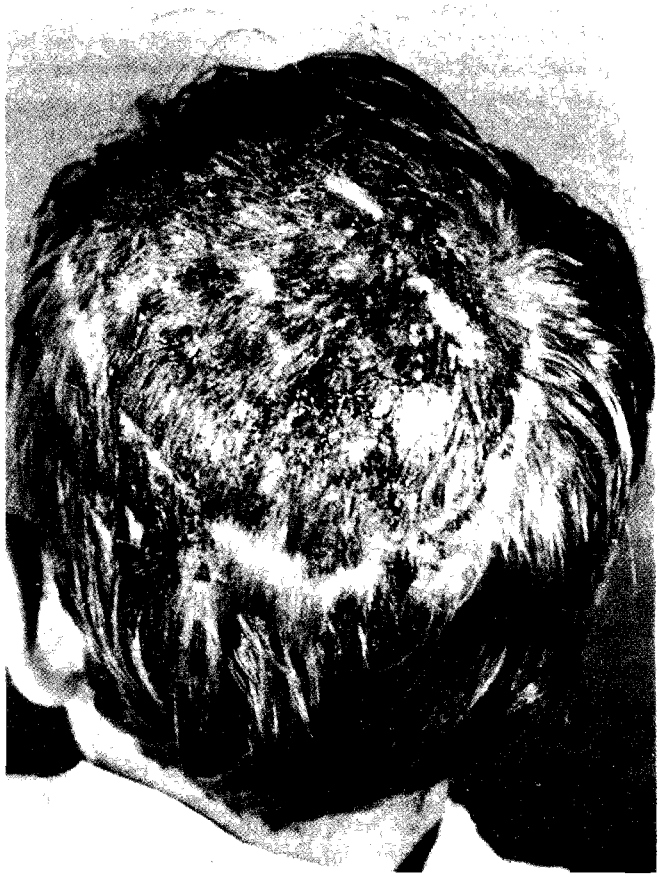


Fig. 70-2. Querion de Celso.

fecciones por *T. verrucosum* y *T. mentagrophytes* var. *granulare* (fig. 70-2). En ningún caso va acompañado de fiebre, adenopatías o alteraciones del estado general.

Las tiñas tonsurantes microspóricas curan al llegar los niños a la pubertad, y es característica la fluorescencia que presentan los pelos parasitados a la luz de Wood (v. más adelante); la parasitación se encuentra a los 2-6 mm de la emergencia del folículo, menos en *M. canis*. En las tiñas tricofíticas y dentro de las áreas lesionadas, se conservan pelos, al parecer, sanos, con una típica forma en S o Z; el pelo tricofítico se quiebra al ras de su emergencia del orificio folicular. Las «tiñas del lanugo», es decir, de los pelos de las regiones lampiñas, están producidas casi siempre por *Trichophyton* o *M. canis*.

La tiña fávica se caracteriza por atacar con mayor frecuencia a individuos adultos, y si ataca a los niños, no cura al llegar a la pubertad. Producida por *T. schoenleinii*, da lugar a unas manchas con escamas amarillentas formadas por la agregación de múltiples lesiones llamadas «cazoletas fávicas»: elevaciones redondeadas concentradas en un pelo, con característico olor a heces de ratón; las cazoletas se visualizan principalmente en los bordes de la lesión. El pelo parasitado presenta zonas claras, como de aire en su interior, y da una fluorescencia verdeamarillenta a la luz de Wood. Las lesiones llevan a una alopecia cicatrizal permanente.

La *tinea barbae* o sicosis de la barba es una foliculitis de la barba y otras áreas de la cara, con un alto componente inflamatorio, que causa pústulas parecidas a las lesiones por cocos piógenos; en ellas se aíslan los hongos productores, principalmente del género *Trichophyton*.

Piel

Cuando la piel lampiña se afecta, el hongo se expande radialmente por la capa córnea del epitelio queratinizado. Aparece, así, una lesión anular, con una zona clara y escamosa en el centro y otra rodeándola, con un borde rojizo en continuo avance (herpes circinado). La reacción inflamatoria del tejido subyacente es mínima, aunque pueden aparecer eritema, irritación, edema e incluso vesículas. En las cepas de procedencia animal o en casos de infección bacteriana secundaria, aparecen reacciones exageradas, incluso con pústulas y ulceraciones. En la zona central no suelen observarse hifas, ya que éstas se rompieron en artrosporas; la toma se hará, por tanto, de la parte periférica. Una variedad clínica es la tiña folicular granulomatosa que aparece en las piernas de mujeres jóvenes, relacionada con la práctica del rasurado y causada por *T. rubrum*.

La *tinea imbricata* o tropical es una lesión circinada, que puede volverse irregular o serpiginosa, y está causada por *T. concentricum*. Se caracteriza por la presencia de anillos dispuestos concéntricamente en placas papuloescamosas. Es característica de las zonas tropicales del sur de Asia, América Central y Sudamérica.

La *tinea cruris* es una dermatofitosis pruriginosa, que aparece en las ingles, periné y región perianal. La lesión es

Fig. 70-3. Dermatofitia en los pies. (Por cortesía del Dr. M. Pereiro.)

roja y seca, salvo complicaciones, nada infrecuentes, de tipo bacteriano y candidiásico.

La *tinea pedis* o pie de atleta (fig. 70-3) es la lesión más frecuente de todas las dermatofitosis. Comienza un picor marcado entre los dedos y después aparecen pequeñas vesículas, que se rompen soltando un líquido transparente; la piel de esta zona se macera, fisura y desprende, facilitando la infección secundaria bacteriana. Hay gran tendencia a la cronicidad, con predominio del picor y las fisuras.

La humedad en las lesiones micóticas de la piel favorece claramente el crecimiento de los hongos, y de ahí la frecuente localización en las zonas con pliegues del cuerpo humano.

Uñas

La *tinea ungium* está favorecida por fenómenos mecánicos de compresión y por otras micosis previas de la piel cercana. Comienza la lesión por la lámina ungueal interna y media, y termina al final por romper la totalidad de la uña. Esta se vuelve friable, irregular, deslustrada y gruesa e incluso presenta cambios de coloración (amarillenta) (fig. 70-4). Producida por especies de *Trichophyton* (*T. rubrum*, principalmente), suele cursar sin perionixis. Se asocia con frecuencia al pie de atleta.

En el curso de las dermatofitosis, los individuos pueden volverse hipersensibles a los antígenos fúngicos y desarrollar cuadros clínicos a distancia de la lesión inicial, conocidos como «dermatofítides». Son lesiones vesiculosas, que no contienen hongos y pueden aparecer en cualquier lugar, pero preferentemente en las manos. Curan al tratar el cuadro originario, y en estas personas la intradermorreacción a la tricofitina es marcadamente positiva.

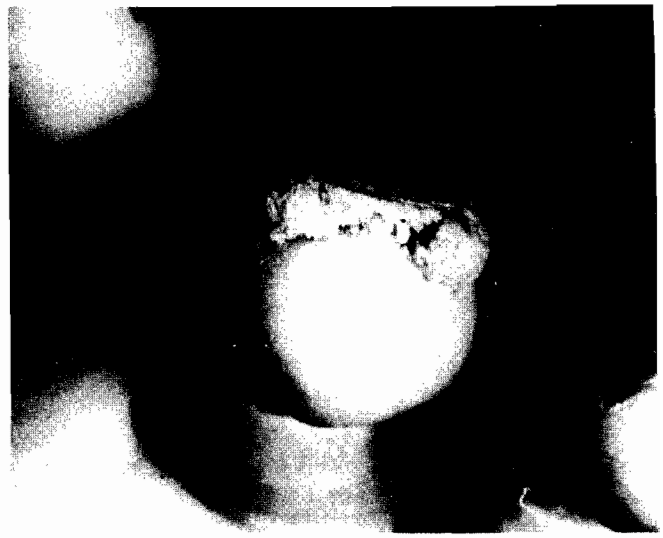


Fig. 70-4. Onixis tricofítica por *T. rubrum* del dedo medio, mano derecha, aumentado de tamaño. (Por cortesía del Dr. M. Pereiro.)

Etiología

Las dermatofitosis están causadas por hongos (tabla 70-2) que poseen la característica de ser queratinofílicos y queratinolíticos. Las especies productoras, apenas 30 a 40, pertenecen a 3 géneros: *Epidermophyton* (1 especie reconocida), *Microsporum* (15 especies patógenas) y *Trichophyton* (25 es-

Tabla 70-2. Principales especies patógenas de dermatofitos

Epidermophyton
*E. floccosum**
Microsporum
*M. audouinii**
*M. canis** (*Nannizzia otae*)
M. fulvum (*Nannizzia fulva*)
M. gypseum (*N. incurvata* y *N. gypsea*)
M. persicolor
M. racemosum
Trichophyton
T. ajelloi (*Arthroderma uncinatum*)
T. equinum
T. gallinae
T. megninii
*T. mentagrophytes**
(*Arthroderma vanbreuseghemii*)
(*Arthroderma benhamiae*)
*T. rubrum**
T. schoenleinii
T. tonsurans
*T. verrucosum**
*T. violaceum**

Las especies señaladas con asterisco causan en su totalidad más del 90 % de las dermatofitosis en nuestro medio. Entre paréntesis se indican los estados sexuales perfectos encontrados (*Ascomycotina*).

pecies). En las lesiones tisulares aparecen sólo en forma de hifas y artrosporas, y en los cultivos (p. ej., medio de Sabouraud a temperatura ambiente) dan lugar a típicas colonias, cuyas conidias o aleurias permiten el diagnóstico diferencial. En 20 especies se ha encontrado el estado sexual perfecto; *Nannizzia* constituye la forma sexual de *Microsporum* y *Arthroderma*, la forma sexual de *Trichophyton*. Ambos géneros pertenecen a la familia *Gymnoascaceae*, clase *Euascomycetes*, subdivisión *Ascomycotina*. El hecho de que en muchas especies no se haya demostrado el estado perfecto puede deberse a que el grado de adaptación humana haya sido tal que en el curso de la evolución se haya perdido la capacidad de vida libre. La diferenciación entre los tres géneros productores de tiñas se realiza por el estudio del material contaminado, que sólo es orientativo, cultivos, tests bioquímicos y comprobación del estado perfecto, cuando crecen sobre fibras o pelos en la superficie del suelo (figs. 70-5 a 70-7).

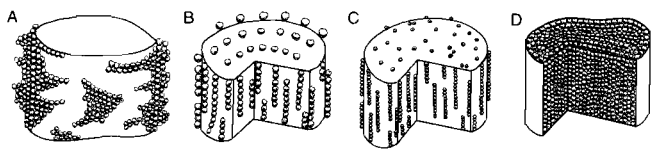


Fig. 70-5 Parasitismo de los pelos. A) *Ectothrix* en mosaico. B) *Ectothrix* megasporado. C) *Ectothrix* microides. D) *Endothrix* artrospórico.

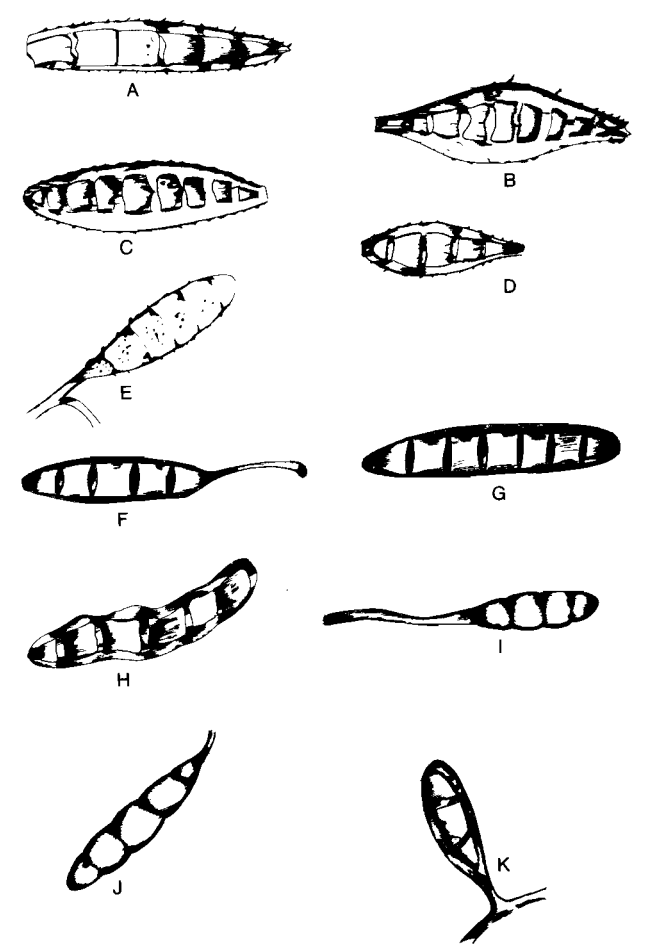


Fig. 70-6. Macroaleurias de *Microsporium audouinii* (A), *M. canis* (B), *M. ferrugineum* (C), *M. gypseum* (D), *M. fulvum* (E), *Trichophyton mentagrophytes* (F), *T. rubrum* (G), *T. tonsurans* (H), *T. violaceum* (I), *T. equinum* (J) y *Epidermophyton floccosum* (K).

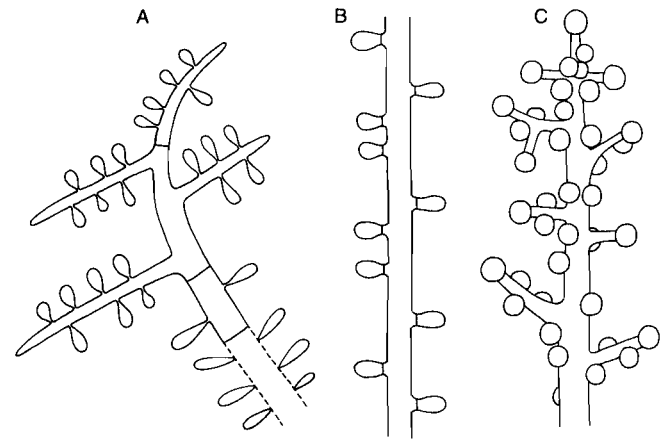


Fig. 70-7. Microaleurias de diversas especies de *Trichophyton*. A) *T. tonsurans*. B) *T. rubrum*. C) *T. mentagrophytes*.

Género Microsporum (Nannizzia)

Las especies de *Microsporum* sólo afectan la piel y pelos. En la primera aparece el hongo en forma de micelios ramificados y segmentados, y se fragmenta en artrosporas o no. En los pelos se identifica el hongo como una vaina de pequeñas esporas alrededor del tallo (*ectothrix*). En las preparaciones teñidas se ve que el micelio intrapilar se detiene antes de llegar al bulbo y forma una franja de filamentos finos, o franja de Adamson, muy característica. Los cultivos desarrollan un micelio aéreo algodonoso o pulverulento, de color blanco a pardo. Las macroaleurias (fig. 70-6), que se forman al final de las hifas, son características: alargadas, fusiformes u ovales, de 2 a 12 celdas, con una pared doble más o menos gruesa y espinosa; el tamaño oscila de 40 a 150 µm de longitud. Las microaleurias en maza, piriformes, unicelulares y de 3 a 6 µm nacen sésiles de las hifas o sobre cortos esterigmas; son poco numerosas y no sirven para la diferenciación de especies. También aparecen hifas en raqueta y en peine, cuerpos nodulares y en espiral, y clamidiosporas. El género *Nannizzia* se caracteriza porque las hifas peridiales aparecen alrededor de los cuerpos de fructificación sexual (gimnotecios) (fig. 70-8). Los caracteres de las principales especies son:

M. audouinii. La colonia, de crecimiento lento, tiene un micelio de gris a pardo en el centro, con surcos radiales; el reverso es pardo rojizo. No crece sobre granos de arroz. Ausencia de grandes macroaleurias, y si aparecen, están incurvadas; microaleurias en maza. Pueden observarse clamidiosporas, hifas en raqueta, etc. Especie antropofílica, que da tiñas en los niños.

M. canis. Colonias de crecimiento rápido de dos tipos: con micelo algodonoso pardo claro y reverso anaranjado (var. *lanosa*), o con micelio de superficie y profundo amarillo anaranjado (var. *felineum*). Crece de forma abundante

Fig. 70-8. Hifas peridiales de *N. incurvata*. (Por cortesía del Dr. M. Pereiro.)

Fig. 70-10. Macronidias de *M. gypseum*. (Por cortesía del Dr. M. Pereiro.)

en granos estériles de arroz. Presencia de grandes macroaleurias de 40-150 µm, de pared gruesa y rugosa, con 8 a 12 celdas y puntas ganchudas, a veces oblicuas (fig. 70-9). Microaleurias sésiles y piriformes, clamidiosporas, etc. Especie zoofílica del cuero cabelludo y regiones lampiñas.

M. gypseum. Colonias de crecimiento rápido, con micelio pulverulento de color pardo claro; reverso pardo rojizo. Al microscopio, macroaleurias de 30-50 µm, multitabicadas, con 4 a 6 elementos, de pared delgada (fig. 70-10). Microaleurias y otros elementos, como en las especies descritas, y destaca que en el pelo las esporas son de gran tamaño (6-8 µm). Especie geofílica, que da lugar a tiñas en la piel y cuero cabelludo. Se han descrito en esta especie dos estados perfectos: *Nannizzia incurvata* y *N. gypsea* (complejo *gypseum*).

Otras especies: *M. fulvum, M. vanbreuseghemii, M. cookei, M. distortum, M. nanum, M. ferrugineum, M. amazonicum, M. boullardii, M. equinum, M. persicolor, M. praecox, M. racemosum, M. ripariae, M. gallinae.*

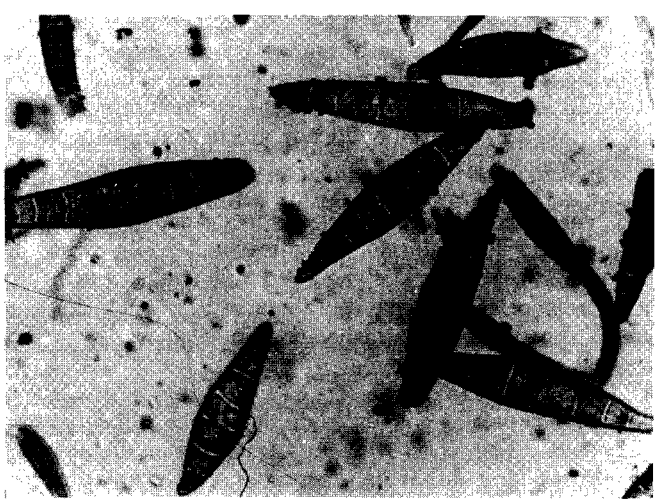


Fig. 70-9. Macronidias de *M. canis*. (Por cortesía del Dr. M. Pereiro.)

Género Trichophyton (Arthroderma)

Las especies de *Trichophyton* atacan la piel, pelos y uñas. En la piel y uñas aparecen elementos ramificados y segmentados con artrosporas o no. En los pelos, las artrosporas pueden dar lugar a cuadros tipo *ectothrix*, con esporas pequeñas o grandes (v. diagnóstico). Los cultivos muestran aspecto variado: algodonoso, pulverulento, velloso o liso, con pigmentaciones de diferentes colores según las especies. Las microaleurias son muy numerosas, en forma de maza de 2 a 4 µm, y a veces muy alargadas; se presentan naciendo en racimos o aisladamente a los lados de las hifas. Las macroaleurias son raras o no existen, y se ven como estructuras fusiformes, hialinas, de pared lisa y delgada, a diferencia de *Microsporum* con una longitud de 10 a 50 µm. Pueden aparecer micelios en raqueta, clamidiosporas, cuerpos nodulares e hifas en espiral (fig. 69-8).

T. mentagrophytes. Los cultivos son pulverulentos y granulosos, de color rosado, aunque el aspecto es muy variable; el reverso de la colonia es rojizo. Se han descrito dos tipos de colonias: una procedente de los animales, blanca y granulosa, que causa lesiones muy supurativas (variedad *mentagrophytes* o *granulare*), y otra, blancoalgodonosa (fig. 70-11), aislada de casos de pie de atleta y de procedencia humana (variedad *interdigitale* o *vellosa*). Las colonias contienen gran cantidad de racimos de microaleurias que surgen de hifas terminales; las hifas en espiral no son infrecuentes. Las macroaleurias son escasas y alargadas. La parasitación del pelo es de tipo *ectothrix*, de esporas pequeñas. Especie zoofílica y antropofílica, que afecta la piel, uñas y pelos de la barba, principalmente. Su estado perfecto o forma sexuada es un complejo, con *A. benhamiae* y *A. vanbreuseghemii* (fig. 70-12).

T. rubrum. Los cultivos son algodonosos y su reverso es rojo o púrpura. Se han aislado dos tipos de colonias: variedad *lanosa* o *vellosa* de las zonas templadas (fig. 70-13) y variedad *africana*, granulosa o pulverulenta de los países tropicales. Esta especie cultivada en agar-glucosa con harina de maíz da un típico color rojizo, a diferencia de *T. mentagrophytes*, que es de color blanco. Las microaleurias en lá-

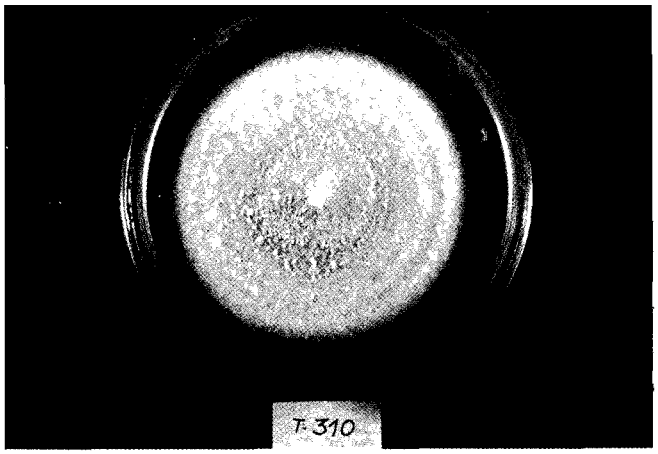


Fig. 70-11. Colonia de *T. mentagrophytes.* (Por cortesía del Dr. González Lama.)

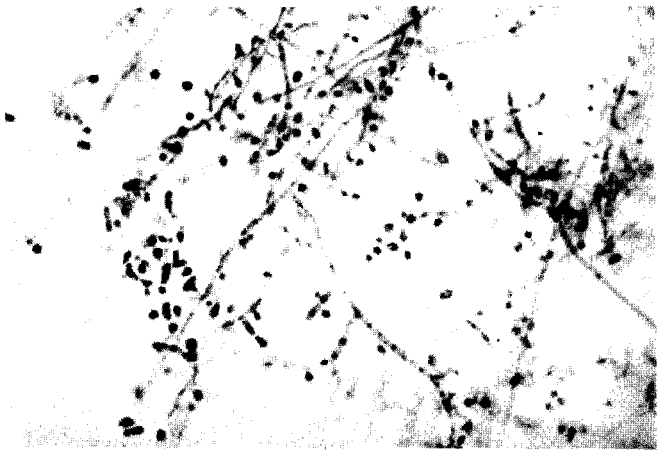


Fig. 70-14. Micronidias de *T. rubrum* var. *vellosa.* (Por cortesía del Dr. M. Pereiro.)

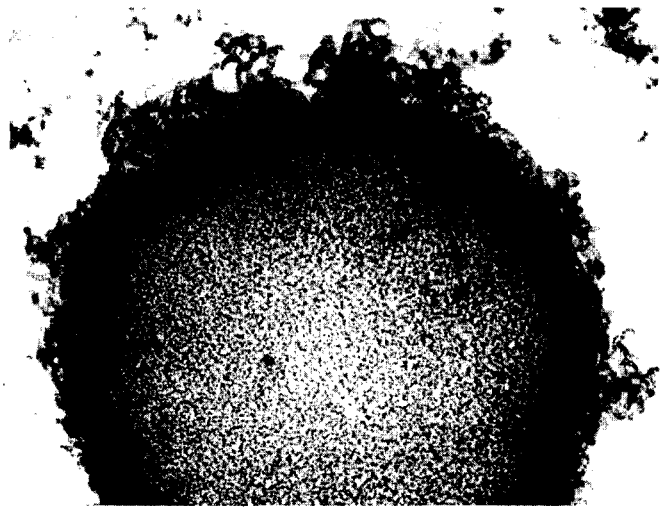


Fig. 70-12. Gymnotecio o hifas peridiales de *A. benhamiae.* (Por cortesía del Dr. M. Pereiro.)

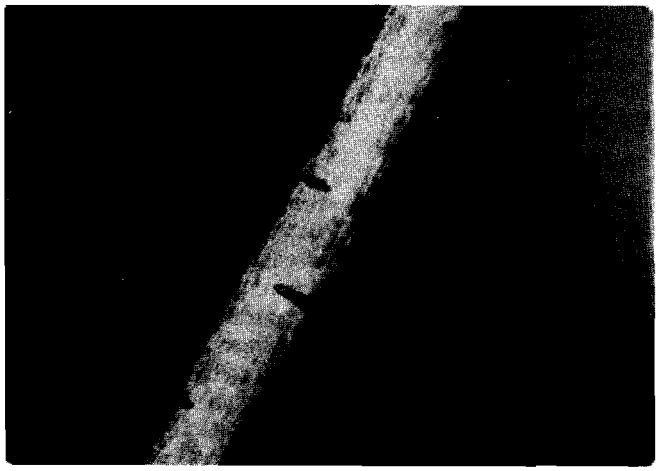


Fig. 70-15. Organos perforantes originados en un cabello normal por el *Trichophyton mentagrophytes,* procedente de un cultivo de herpes circinado. Luz polarizada. (Por cortesía del Prof. J. Ocaña.)

Fig. 70-13. Microaleuriosporas de una colonia. de *T. rubrum.* (Por cortesía del Dr. González Lama.)

grima o sésiles (fig. 70-14) nacen en racimos muy numerosos y el resto de las estructuras son las comunes al género. Esta especie es ureasa-negativa y no perfora el pelo cuando crece en él (fig. 70-15), características también diferenciales de la anterior. Es antropofílica y afecta marcadamente la piel sin pelos y las uñas.

T. verrucosum. Produce una colonia de crecimiento lento y aspecto cerebriforme, con pliegues. En ella se observan clamidiosporas, y si el medio es muy rico, se ven macro y microaleurias. Es una especie zoofílica (bóvidos), que afecta al hombre, con parasitación tipo *ectothrix* de grandes esporas.

T. violaceum. La colonia es de tipo liso, brillante y aterciopelado, y de color violeta. La presencia de aleurias en ella es muy difícil de comprobar y sólo aparecen en medios enriquecidos. Es una especie antropofílica, con una parasitación *endothrix* del pelo.

T. schoenleinii. La importancia de esta especie se debe más a su gravedad y alopecia residual que a su frecuencia. Da lentamente unas colonias típicamente radiadas, de color blanco amarillento, céreo. En ella, casi nunca se observan macroaleurias, pero sí los típicos «candelabros» fávicos y clamidiosporas. Es una especie antropofílica, con parasitación *endothrix* del pelo, en el que aparecen unas hifas muy anchas, antes llamadas túneles de aire, y burbujas de gas. Esta especie es autotrófica para vitaminas, a diferencia de *T. verrucosum*, que necesita tiamina e inositol para su crecimiento.

Otras especies: *T. tonsurans, T. simii, T. equinum, T. ajelloi, T. megninii, T. concentricum, T. flavescens, T. georgia, T. gloria, T. gourvilli, T. longifusus, T. phaseoliforme, T. soudanense, T. terrestre, T. vanbreuseghemii.*

Género Epidermophyton

Sólo ataca la piel y uñas, donde se ven los elementos ramificados similares a los géneros anteriores. *E. floccosum* da colonias pulverulentas de color verde aceituna, con gran número de surcos radiales. Al microscopio se observan numerosas macroaleurias, de 20-40 µm de longitud por 7-12 µm de anchura, de pared gruesa y lisa, multitabicadas, con 1 a 5 elementos; nacen de las hifas, aisladas o en racimos («racimos de plátanos»). No se observan microaleurias. Es una especie antropofílica, que produce tiñas de localización principal en ingles y piel, y de la que no se conoce estado perfecto.

Patogenia

Los mecanismos mediante los cuales los dermatofitos ejercen su acción patógena se desconocen. Conocemos su queratofilia, con la capacidad de crecer en las células de la capa córnea de los epitelios queratinizados, en el interior del pelo formado y en el espesor de las uñas; en todos los casos, células muertas. Los filamentos del micelio siguen la capa córnea que se curva en el orificio folicular y descienden por éste (fig. 70-16), hasta la zona de adherencia de la vaina epitelial y del pelo. A la altura donde el pelo cesa de estar queratinizado, en el cuello del bulbo piloso cesa la parasitación. El pelo continúa siendo elaborado, puesto que el bulbo y la papila permanecen sanos, pero estará parasitado durante todo su crecimiento.

La reacción inflamatoria frente a la infección micótica es más o menos marcada, y es máxima en las especies de origen animal o en algunas de ellas (p. ej., *T. schoenleinii*); se desconoce la causa de dicha reacción. De la misma forma se desconoce el origen de diversos hechos clínicos sorprendentes: *Epidermophyton* y *T. rubrum* nunca atacan el pelo; las especies de *Microsporum* tampoco alteran las uñas, y *M. canis* es rarísimo que dé cuadros de tiña de la barba.

También se desconocen los fenómenos inmunológicos que acompañan estas afecciones. La tricofitina es un péptido-galactomannano, que produce una respuesta *in vivo* de base celular, en muchos individuos adultos, enfermos o sanos. El componente hidrocarbonado es el responsable de una respuesta inmediata a la intradermorreacción con tricofitina, mientras que el peptídico es el verdadero responsable de la hipersensibilidad retardada. Parece que los pacientes sin respuesta o con sólo respuesta inmediata a la tricofitina presentan con más facilidad cuadros clínicos crónicos. Las personas con un déficit específico de la inmunidad celular mostrarían cuadros de micosis rebeldes y recidivantes al tratamiento.

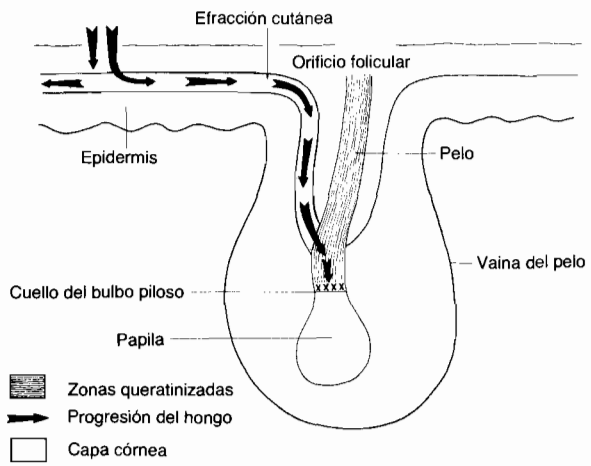


Fig. 70-16. Progresión del hongo que parasita un folículo piloso.

Diagnóstico

Los cuadros clínicos en que se sospecha la etiología fúngica deberán demostrarse en el laboratorio por el cultivo e identificación del hongo causal, o con la cooperación del diagnóstico indirecto.

Directo

Toma de la muestra. En las lesiones de piel se hará un raspado de las zonas periféricas, pues en las centrales pueden haber desaparecido las hifas por fragmentación en artrosporas. En lesiones supurativas se recogerá el pus. En lesiones muy húmedas se utiliza un hisopo de algodón estéril. En muchos casos procede limpiar, previamente a la toma, con alcohol de 70 %. En pacientes tratados con antifúngicos, un resultado negativo no tiene valor y se deberá repetir el tratamiento unos días o semanas después. En las uñas se tomará la muestra de la zona lesionada, engrosada o alterada, de color, mediante raspado con tijeras o bisturí; si existe perionixis, el pus del lecho ungueal es el que debe recogerse. En los pelos se tomarán con lupa los más lesionados mediante pinzas flameadas y se observará si el pelo sale por completo o no y si posee una vaina blanquecina; en caso de que se rompa en la epidermis (p. ej., *T. violaceum*), se debe extraer el resto del orificio folicular con una aguja.

El transporte se hará en tubos o frascos estériles, a temperatura ambiente, y se tomarán, al igual que en la recogida, precauciones para evitar la contaminación bacteriana.

En pelos y escamas es de interés comprobar, frente a una lámpara ultravioleta de Wood de 3.650 Å, la presencia de fluorescencia, que es positiva y verde brillante en *Microsporum* spp., y típicamente amarilloverdosa en *T. schoenleinii*, a diferencia de otras especies en que es negativa (*T. tonsurans, T. violaceum*). Algunos agentes de micosis superficia-

Tabla 70-3. Tipos de parasitación del pelo por dermatofitos

Ectothrix			*Endothrix*	
Mosaico[1]	Megaesporada[2]	Microide[3]	Artrospórica[4]	Filamentosa[5]
M. canis	*M. gypseum*	*T. mentagrophytes*	*T. tonsurans*	*T. schoenleinii*
M. audouinii	*M. fulvum*	*T. rubrum*	*T. rubrum*	
M. distortum	*M. nanum*	*T. megninii*	*T. violaceum*	
M. ferrugineum	*M. vanbreuseghemii*		*T. yaoundei*	
	M. gallinae		*T. soudanense*	
	T. verrucosum		*T. gourvilii*	

[1]Microsporas de 3 µm en masas irregulares alrededor del pelo.
[2]Esporas de 5-8 µm por fuera y dentro del pelo.
[3]Esporas de 3-5 µm por fuera y dentro del pelo.
[4]Esporas de 5-8 µm en haces paralelos dentro del pelo.
[5]Hifas muy anchas en el interior del pelo.

les (*P. orbiculare*) también fluorescen por este método. Las sustancias responsables de la fluorescencia son pteridinas (pirimidina 4-5, piracina 2-3).

Examen directo. Las escamas o pelos de las lesiones deben tratarse con sustancias que vuelvan transparente la queratina de las células y permitan así visualizar el hongo. Se puede utilizar la potasa al 10-40 %, clorolactofenol simple o salicilado, lactofenol con azul de algodón, antiformina, dimetilsulfóxido, etc. Con cualquiera de las técnicas es necesario calentar suavemente la preparación entre porta y cubre para no alterar la morfología de los hongos o producir artefactos. La visualización, inmediata y a los 20 minutos, al microscopio óptico o de contraste de fases, permitirá comprobar las hifas ramificadas, tabicadas o hialinas y las artrosporas, que deben diferenciarse de depósitos de colesterina, fibras elásticas o células córneas. La parasitación en el pelo y las diferencias entre las especies se recogen en la tabla 70-3 y figura 70-5. Pueden usarse técnicas de fluorescencia, tiñendo las preparaciones con naranja de acridina al 10 % en potasa.

En las dermatofitosis, el examen directo no permite establecer un diagnóstico específico; lo único que comprueba es que se trata de un dermatofito o una levadura, observando la presencia de hifas y de esporas, y si éstas en las parasitaciones del pelo lo hacen fuera o dentro de él. Para determinar la especie causante, es imprescindible el cultivo.

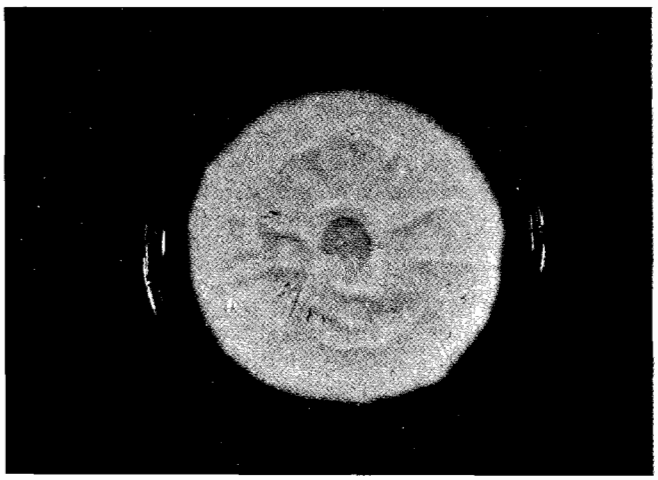


Fig. 70-17. Colonia de *T. tonsurans*. (Por cortesía del Dr. González Lama.)

Cultivos e identificación. Como indicamos en el capítulo anterior, el medio más utilizado es el agar-Sabouraud-cicloheximida, con adición de antibióticos (p. ej., cloranfenicol), que contiene peptona como fuente proteica y glucosa como hidrocarbonada. El medio en tubos inclinados o placas se sembrará con sumo cuidado para evitar contaminaciones, y se colocará a 25-28 °C y, en ocasiones, a 37 °C (*Trichophyton* spp.).

Pueden usarse medios denominados naturales, como los compuestos de fragmentos de patata, zanahoria, grano de cereales (arroz, trigo, centeno) o preparados con un cocimiento de harina, cereales y agar. Se usan porque en ellos los dermatofitos dan con mayor constancia y riqueza las aleurias; por otra parte, *M. audouinii* no crece en medio de arroz, a diferencia de *M. canis*.

Para que la colonia adquiera su máximo desarrollo y características, es aconsejable la siembra en placas Petri (figs. 70-11, 70-13 y 70-17); adquieren su máximo desarrollo hacia los 10 días en los hongos de crecimiento rápido, y de 1 a 2 meses en los de crecimiento lento. Entonces se dice que la colonia está «madura» y sus dimensiones, a temperatura y medio constantes, suelen ser iguales. Es necesario observar la textura (membranosa, si no hay micelio aéreo y los filamentos sólo aparecen en la periferia; filamentosa, con abundante micelio aéreo, y pulverulento-granular, sin micelio aéreo y abundante producción de conidias), la presencia o no de pliegues radiados, el color, el borde y el aspecto del reverso, con pigmento en la colonia o difusible al medio. Este color puede ser igual que el del anverso (*E. floccosum*) o diferente (*T. megninii*).

Al estudio microscópico podemos comprobar los siguientes datos:

1. Observación del micelio a pocos aumentos, a partir del propio medio de cultivo.
2. Examen de un sector de la colonia sobre un portaobjetos.
3. Cultivos en bloque de agar.
4. Cultivos en gota pendiente.
5. Inclusión en parafina de fragmentos de una colonia, muy útil en la demostración de peritecios.

Con estas técnicas se observarán la forma, tamaño y agrupación de las aleurias y demás estructuras del hongo, que hemos citado en el apartado anterior. Recordemos que las macroaleurias son multiseptadas y de pared gruesa y espinosa en *Microsporum* (fig. 70-6), septadas y de pared lisa y

delgada en *Trichophyton*, y con pocos septos y pared lisa y gruesa en *Epidermophyton*. Las microaleurias pueden aparecer en número variable (*Microsporum*), ser numerosas (*Trichophyton*) o estar ausentes (*Epidermophyton*).

El diagnóstico micológico se planteará no sólo entre los dermatofitos, sino con los hongos contaminantes no patógenos, tan frecuentes en el medio ambiente (p. ej., *Penicillium, Scopulariopsis, Trichoderma, Graphium, Oospora, Helminthosporium, Pullularia, Hemispora*, etc.) o potencialmente patógenos (*Aspergillus, Mucor, Rhizopus*).

Otros métodos de identificación. Son muy variados y su uso está condicionado por el diagnóstico de la especie aislada. Son métodos diferenciales.

1. Temperatura óptima de desarrollo. Para casi todos los dematofitos es de 25-28 °C, con algunas excepciones (*T. verrucosum*), a diferencia de *Candida*.
2. Propiedades bioquímicas, como presencia de ureasa (*T. mentagrophytes*), licuefacción de la gelatina, acción sobre la leche o almidón, producción de sulfhídrico, asimilación utilizando como única fuente de carbono 12 compuestos diferentes, etc. Los tests nutricionales de este tipo tienen gran importancia en el diagnóstico actual de las especies de dermatofitos.
3. Requerimientos vitamínicos, en los que a partir de un medio básico con caseína se investiga la necesidad de tiamina (*T. tonsurans*), inositol (*T. verrucosum*) o ácido nicotínico para el crecimiento del hongo.
4. Alcalinización del medio de Sabouraud con rojo fenol, que se produce en los dermatofitos por una desaminación oxidativa de los aminoácidos, a diferencia de las bacterias y hongos saprofitos que lo acidifican (p. ej., el DTM, medio de prueba para dermatofitos).
5. Queratinólisis *in vitro* del pelo en cultivos. Así, *T. mentagrophytes* produce perforaciones perpendiculares al eje (fig. 70-15).
6. La inoculación experimental no se usa normalmente. Es importante recordar que *T. mentagrophytes* es huésped habitual del pelo de los conejos.
7. El estudio histopatológico de las lesiones sólo se realiza en casos excepcionales.
8. Ciertas especies (tabla 70-2 y figs. 70-8 y 70-12), cuando crecen sobre fibras o pelos en la superficie del suelo, desarrollan las formas sexuadas o estado perfecto, lo que permite el diagnóstico exacto (*Nannizzia* y *Arthroderma*).

Indirecto

El interés de las pruebas cutáneas por la tricofitina no es diagnóstico, ya que un test positivo no significa más que una dermatofitosis, reciente o antigua, sin que se pueda precisar, además, la especie causal.

Una reacción negativa no excluye un proceso que está en evolución. Las pruebas serológicas carecen totalmente de interés clínico.

Epidemiología

Desde un punto de vista epidemiológico, las especies de dermatofitos pueden ser antropofílicas, zoofílicas y geofílicas, según su origen.

Antropofílicas

Son especies exclusivas del hombre, que han adaptado su existencia al crecimiento en tejidos humanos, y en ellos no ha podido demostrarse el estado sexual perfecto, que debieron tener, pero han perdido. El contagio se realiza, pues, de hombre a hombre, en forma directa por contacto o en forma indirecta a través de fómites contaminados por pelos o escamas parasitadas con esporas; así, tenemos los contagios por toallas, cepillos, duchas públicas, etc. Destacan las siguientes especies:

1. *T. rubrum*, primera causa de tiñas de pie y uñas en Estados Unidos y en continuo aumento en todo el mundo. Su propagación va unida al uso de piscinas y baños públicos. También es importante causa de *tinea cruris*.
2. *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* o *vellosa*, segunda causa de tiñas del pie y uñas en Estados Unidos. Junto a *T. rubrum* es la primera causa mundial del pie de atleta. Agente importante también de *tinea cruris*.
3. *T. tonsurans*, frecuente en Europa meridional y Estados Unidos.
4. *T. violaceum*, agente de micosis en cabeza, uñas y pies, con gran incidencia en los países del Mediterráneo y centro Europa.
5. *M. audouinii*, primera causa de tiñas del cuero cabelludo en los niños norteamericanos y europeos, que curan al llegar la pubertad. En España está en descenso a favor de *M. canis*, y hoy día su aislamiento es excepcional.
6. *T. schoenleinii*, productor del *favus* en Africa, Sudamérica y Asia, y por vecindad sur de Europa. Típico agente unido al subdesarrollo y con aparición familiar.
7. *E. floccosum*, productor de afecciones en ingles y pies, de extensión mundial.

Estas especies se caracterizan por aparecer en brotes epidémicos en escuelas, colegios y orfelinatos.

Zoofílicas

Se trata de especies que tienen como huéspedes normales a animales, y la infección se transmite a personas que están en íntimo contacto con ellos; los animales actúan, por tanto, como reservorio de infección. Los principales son:

1. *M. canis*, principal agente de tiñas en perros y gatos, en los que se mantienen endémicamente. Importante agente de tiñas del cuero cabelludo en España, Estados Unidos, Rusia y Sudamérica, y, en menor frecuencia, también de *tinea corporis*. En continuo avance con respecto a *M. audouinii*.
2. *M. distortum*, aislado de los monos.
3. *M. gallinae*, procedente de aves de corral.
4. *T. verrucosum*, infección cosmopolita a partir del ganado vacuno.
5. *T. mentagrophytes* var. *granulare*. Junto al anterior es la principal causa de querion en el medio rural (cuero cabelludo, barba y piel lampiña).
6. *T. equinum*, que da lugar a tiña en los caballos.

Estas especies dan cuadros esporádicos de tiñas o pequeñas epidemias de tipo familiar, alrededor del foco animal causal.

Geofílicas

Son dermatofitos que forman parte de la flora saprofita del suelo, y atacan aquí los restos de queratina existentes procedentes de escamas, pelos y plumas. La única especie patógena para el hombre es *M. gypseum*, que es cosmopolita y está en continuo aumento; también afecta a los animales salvajes y domésticos (perros y caballos).

Por otra parte, el suelo es reservorio de especies antropofílicas y zoofílicas, pues se ha comprobado, por ejemplo, que las escamas parasitadas por *T. rubrum* pueden mantener su virulencia en aquél durante 7 meses.

Otros factores epidemiológicos

Edad. En los lactantes es típica la «dermatitis de los pañales» y en los niños mayores hasta la pubertad lo son las tiñas tricofíticas y microspóricas del cuero cabelludo, que curan solas al llegar aquélla, al parecer por el aumento de los ácidos grasos no saturados de la piel, que tiene lugar por causa hormonal a esa edad.

Las otras localizaciones son típicas de la edad adulta.

Sexo. Por razones profesionales o no, son mucho más frecuentes en el sexo masculino. Sin embargo, *T. rubrum* da lugar a una foliculitis en las piernas, típica de las mujeres de pelo negro.

Clima. La temperatura y humedad, típicas de las zonas tropicales, favorecen las micosis de estos países. Las regiones húmedas o maceradas (sujetos obesos), con pH alcalino, están particularmente expuestas, así como los pies de los individuos que frecuentan las piscinas y las duchas colectivas. En ellos, el pie de atleta se favorece por los calcetines de nailon, calzados de suela de caucho, botas, etc. Ciertos hábitos de áreas tropicales, como el caminar descalzo, hacen que los habitantes no padezcan nunca el pie de atleta.

Nivel socioeconómico. Las tiñas del pelo van unidas a un bajo nivel de desarrollo, nutrición, etc. Sin embargo, las localizaciones de piel y uñas son indiferentes al nivel social de la población.

Profesión. El contacto con animales infectados favorece estos procesos. Así, en matarifes, tratantes de ganado, veterinarios, etc., son frecuentes las afectaciones por *T. mentagrophytes* var. *granulare* (caballos, vacas, perros) o *T. verrucosum* (bóvidos). El contacto con animales de laboratorio (cobayos, ratas, ratones, conejos) o de peletería (zorros, chinchillas) favorece la parasitación por *T. mentagrophytes*.

Viajes a zonas de alta endemicidad. Pueden dar lugar a cuadros difíciles de diagnosticar, cuando se vuelve a las zonas de residencia habitual.

Enfermedades previas. Cabe destacar diabetes, otras endocrinopatías, traumatismos, anomalías circulatorias, etc.

Tratamiento

Debe ser local y general.

Local

En las afecciones del pelo es conveniente su corte repetido y el lavado diario con jabón ácido o detergente. Es imprescindible un gorro de tela.

Las curas locales con pinceladas de ácido salicílico, alcohol yodado salicílido, ácido undecilénico o sus sales, y pomada de Whitfield (ácido sacílico y benzoico con vaselina) siguen teniendo interés.

Los derivados imidazólicos (nitrato de miconazol o econazol, clotrimazol o isoconazol) por vía local presentan el interés de ser activos también sobre las afecciones por levaduras. El ketoconazol, por vía digestiva, parece de mayor eficacia.

El uso del talio para mantener secos los espacios interdigitales y llevar calzado abierto o sandalias son medidas que hay que tomar en el tratamiento de los enfermos de *tinea pedis*.

General

Se hace mediante griseofulvina, antibiótico obtenido de *Penicillium griseofulvum* y otras especies. Actúa impregnando las estructuras queratinizadas a medida que se van produciendo (fig. 70-16), por lo que en el pelo queda una neta separación entre la parte parasitada (distal) y la sana (proximal). Es un fungistático y no un fungicida, por lo que el mantenimiento de una concentración suficiente en la queratina es importante y de ahí la necesidad de una terapia prolongada.

Su uso es por vía oral y, a ser posible, tras una comida grasa (p. ej., pan con mantequilla), pues se absorbe mejor. Las dosis, en dos tomas diarias, varían con:

1. La edad: 250 mg/día hasta los 5 años; 0,5 g/día de 5 a 12 años, y 1 g/día para adultos. Es suficiente la mitad de la dosis en las formas micronizadas.
2. El agente causal, pues en *M. canis* puede bastar una tanda de 3 semanas, mientras que en *T. rubrum*, *T. tonsurans* y *T. schoenleinii* se pueden necesitar 6 a 8 semanas. En infecciones por *T. rubrum* son de utilidad el miconazol y clotrimazol. Si el componente inflamatorio es muy grande (querion), se aconseja el uso de prednisolona u otro corticoide.
3. La localización, pues 10 días pueden ser suficientes para una lesión en la cabeza, 3 semanas para la del pelo y meses para las de las uñas. En este caso se vigilarán las posibles intolerancias: gastralgias, cefaleas, vértigo, etc.

Para dar por curada una *tinea capitis*, es necesario comprobar que 2 tomas con 8 días de intervalo dan un resultado micológico negativo.

El ketoconazol, a dosis única de 200-400 mg, administrado oralmente con la comida, es muy efectivo en dermatomicosis y onicomicosis causadas por los géneros estudiados.

Profilaxis

El diagnóstico precoz y el tratamiento eficaz son medidas de gran interés profiláctico en la comunidad. En las dermatofitosis de origen humano, los niños dejarán de ir a la es-

cuela y se hervirá la ropa que haya estado en contacto con las lesiones; el uso de peines y otros objetos de aseo será individual. La desinfección de fómites contaminados es una medida importante. En las dermatofitosis de origen animal se buscará éste y se tratará el foco de la infección. En todos los casos, el examen dermatológico de los contactos es de gran interés, para descubrir nuevos casos o fuentes de infección (para lo que nos podemos ayudar de la luz de Wood). La educación sanitaria de la población susceptible es importante.

MICOSIS SUPERFICIALES

Son aquellas que sólo afectan la capa córnea o pelos, sin producir alteración alguna del dermis subyacente (epidermomicosis). Las principales son cuatro:

1. *Tiña versicolor*, producida por *Pityrosporum orbiculare (Malassezia furfur)*.
2. *Tiña negra* palmar, producida por *Cladosporum werneckii (C. mansoni)*.
3. *Piedra negra*, producida por *Piedraia hortai*.
4. *Piedra blanca*, producida por *Trichosporon cutaneum (T. beigelii)*.

Otras dos afecciones bacterianas dan cuadros similares a los de las micosis superficiales, por lo que las citamos aquí: eritrasma, producido por *Corynebacterium minutissimun*, y tricomicosis axilar, producida por *Corynebacterium tenuis*.

Tiña versicolor

La más frecuente de las epidermomicosis es una enfermedad de la capa córnea del epitelio de la piel, que afecta principalmente el tronco y provoca unas lesiones maculosas de color rojo pardusco, con descamación marcada. Puede extenderse a los brazos y espalda (fig. 70-18). En la época estival se observa con frecuencia la variedad acrómica *(pitiriasis alba)*. Las zonas afectadas fluorescen a la luz de Wood. Es más frecuente en jóvenes y es cosmopolita y de climas calurosos y húmedos. Existe una susceptibilidad particular de ciertas personas y aparece en relación con terapéuticas corticoides.

El diagnóstico se comprueba por:

1. Signo de la uñada (desprendimiento de escamas tras el raspado con la uña).
2. Observación de las lesiones a la luz de Wood, con fluorescencia verde amarillenta.
3. Prueba de la cinta adhesiva, que se coloca sobre la lesión y con azul de metileno o no, se observa al microscopio, comprobando las hifas en racimo.
4. Observación de escamas obtenidas de las lesiones y colocadas entre porta y cubre con una gota de potasa al 10 %. *M. furfur* se observa como racimos de formas redondas (2 a 4 μm), algunas en gemación, y elementos de micelio, cortos y rectos. Deberán diferenciarse de las esporas de *P. ovale*, saprofito de la piel.

El tratamiento de elección es el de sulfuro de selenio en forma de champú, en días alternos, durante varios meses.

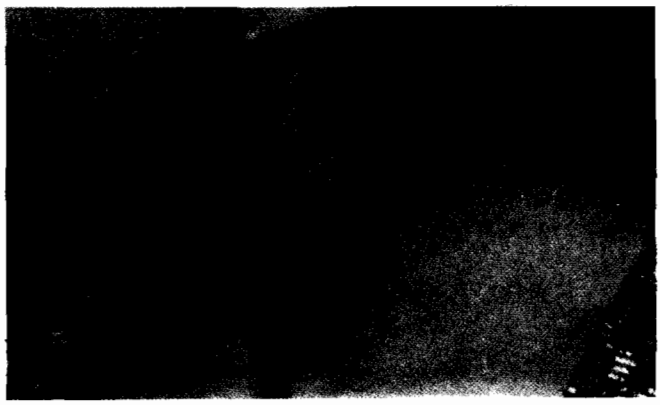


Fig. 70-18. Pitiriasis versicolor. (Por cortesía del Dr. Pozo Carbellido.)

Como debe evitarse el uso prolongado, se alternará con champú de povidona yodada al 7,5 %. El ketoconazol ha demostrado una gran efectividad en este proceso.

Tiña negra palmar

Es una afección de la capa córnea, caracterizada por manchas negras o parduscas localizadas en la palma de la mano, aunque no exclusivamente. Descrita en el continente americano y con posterioridad en Europa, afecta principalmente a mujeres de menos de 20 años. Las lesiones son lisas, sin bordes elevados, escamas, vesículas ni señal de afectación dérmica.

El diagnóstico se confirma por observación en los raspados de las áreas oscuras y visualización al microscopio tras añadir una gota de potasa al 10 %. En aquéllas aparecen hifas pigmentadas, ramificadas y tabicadas. El cultivo en agar-Sabouraud-glucosa a temperatura ambiente durante varias semanas demuestra unas colonias negras y brillantes, tipo levadura. En ellas, al microscopio aparecen blastosporas de 5 μm, a lo largo de hifas oscuras; también se producen conidias unitabicadas del tipo *Cladosporium*.

El tratamiento es a base de azufre, ácido salicílico o yodo, a los que la afección responde fácilmente.

Piedra

Es una infección del pelo, caracterizada por la presencia de unos nódulos duros, a lo largo del talo del pelo; estos nódulos pueden ser microscópicos u observarse a simple vista. La «piedra negra» producida por *P. hortai* es típica de las regiones tropicales de América del Sur y da lugar a nódulos negros u oscuros del pelo del cuero cabelludo. «*Piedra blanca*» producida por *T. cutaneum* aparece en Europa y América, en regiones de clima benigno, y da lugar a nódulos de color pardo claro en los pelos de la barba y bigote.

El diagnóstico se realiza por estudios de los pelos enfermos, con una gota de potasa al 10 % entre porta y cubre. Los nódulos de *P. hortai* están firmemente adheridos y formados por hifas ramificadas y muy tabicadas; hay un gran número de ascos con ascosporas en su interior. Los de *T. cutaneum* se desprenden más fácilmente y en ellos se observan

hifas y blastosporas, sin ascos. En el cultivo en agar-Sabouraud sin actidiona, en ambos hongos y a temperatura ambiente, aparecen unas colonias negras cerebriformes con hifas y clamidosporas (*P. hortai*) o unas colonias cremosas oscuras, también con hifas tabicadas con artrosporas de 3 por 6 µm (*T. cutaneum*).

Aparte el rasurado, en el tratamiento se utilizan lavados diarios con soluciones de mercurio o selenio.

Eritrasma

Es una lesión crónica de localización en axilas y pliegue inguinocrural, caracterizada por áreas maculopapulosas, de color pardo claro o netamente rojizas. No aparece componente inflamatorio ni respuesta alguna de la dermis. Existe una descamación muy fina. La lesión a la luz de Wood da un típico color rojo. El cuadro afecta más a los jóvenes y es de distribución mundial. El diagnóstico se realiza por examen directo de las escamas o raspado de la zona afectada; en ellas, directamente o por tinción, aparece la bacteria en forma bacilar o de cortos filamentos, lo que permite una diferenciación fácil con dermatofitos o levaduras. El tratamiento de elección es la eritromicina, 1 g diario, durante 2 a 4 semanas.

Tricomicosis axilar

Es una lesión de los pelos de la axila o pubis, caracterizada por la aparición, en torno a ellos, de nódulos de color amarillo y, menos frecuentemente, rojo o negro. Los nódulos pueden estar aislados o formar una vaina alrededor de todo el tallo del pelo; nunca se afectan la raíz ni la piel cercana. Es típica de los climas tropicales. El diagnóstico se confirma por la observación entre porta y cubre del pelo con adición de una gota de potasa al 10 %. Se comprueba, así, la existencia del nódulo, y en éste unos bacilos finos y cortos, que corresponden a *Corynebacterium tenuis*. La diferencia con infecciones por dermatofitos y piedra es sencilla. El tratamiento consiste en afeitado de la zona y terapéutica con pomadas de azufre o mercurio.

BIBLIOGRAFIA

Almazán, D. M.; Valerón, P.; López-Orge, R. H.; y González-Lama, Z.: Tres casos clínicos de dermatofitosis en Canarias. Laboratorio, 72, 391-404, 1981.

Campbell, M. C., y Stewart, J. L.: The Medical Mycology Handbook. Wiley, New York, 1980.

Content-Audonneau, N., y Percebois, G.: Mating types of strains of the «*mentagrophytes*» complex in relation to clinical lesions. En Vanbreuseghen, R., y De Vroey (dirs.): Sexuality and Pathogenicity of Fungi. Masson, Paris, 1981.

Delgado, V.: *Tinea capitis* inflamatoria en el adulto por *T. tonsurans*. Laboratorio, 72, 369-374, 1981.

Dulanto, F.: Dermatología médico-quirúrgica, vols. I y II. Anel, Granada, 1982.

Hejtmanek, M.: Recombination and genetic complementation in dermatophytes. En Vanbreuseghen, R., y De Vroey (dirs.): Sexuality and Pathogenicity of Fungi. Masson, Paris, 1981.

Ocaña, J., y Santos, F.: Los órganos perforantes observados con luz polarizada. Laboratorio, 72, 381-384, 1981.

Peña, J.: Micología Clínica. Ciencia, Madrid, 1983.

Pereiro, M.: Dermatofitos. Estudio de su aspecto clínico y de sus agentes causales. Laboratorio, 72, 303-329, 1981.

Rebell, G., y Taplin, D.: Dermatophytes. Their Precognition and Identification, 2.ª ed. Univ. of Miami Press, Coral Globes, 1970.

Rippon, J. W.: Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes, 2.ª ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1982.

Roberts, S. O. B.; Treatment of the Superficial and Subcutaneous Mycoses. En Speller, D. I. E. (dir.): Antifungal Chemotherapy. Wiley, Chichester, 1980.

Ross, I. K.: Biology of the fungi. McGraw Hill, New York, 1979.

Capítulo 71

Hongos productores de micosis sistémicas y subcutáneas

Gonzalo Piédrola-Angulo

Entre las micosis sistémicas se incluyen la histoplasmosis, coccidioidomicosis, blastomicosis y paracoccidiomicosis. Entre las subcutáneas destacan la esporotricosis, cromicosis, feomicosis, ficomicosis, rinosporidosis y lobomicosis (tablas 69-2 y 71-1). Estas micosis subcutáneas aparecen en general tras la inoculación de las esporas en la piel, a diferencia de las primeras que suelen transmitirse por inhalación de éstas. El tratamiento de estas micosis se cita conjuntamente al final del capítulo.

HISTOPLASMA CAPSULATUM

La histoplasmosis, enfermedad de Darling, es una micosis profunda, de amplia distribución mundial, producida por *Histoplasma capsulatum*, cuya forma perfecta es *Emmonsiella capsulata*. Se trata de un hongo dimórfico, que en las células del sistema reticuloendotelial y en los cultivos a 37 °C aparece como una levadura de 2 a 5 µm de diámetro. En los cultivos por debajo de 30 °C y en el medio ambiente aparece en formas esféricas de macroaleuriosporas de 8-16 µm, con proyecciones a su alrededor, y microaleuriosporas de 2-5 µm.

La histoplasmosis africana, enfermedad de Duncan, es una variedad de histoplasmosis, en la que las lesiones aparecen en la piel y huesos craneales; está producida por *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*.

Acción patógena

El hábitat natural de *H. capsulatum* es el suelo de zonas templadas y húmedas. Las esporas son inhaladas por los habitantes de las zonas endémicas, que adquieren así la primoinfección, habitualmente pulmonar. Un 1 ‰ de los sujetos infectados presentan un cuadro clínico, quizá por un fallo en la resistencia específica del individuo. El hongo se propaga por vía linfática, primero, y sanguínea, después, dando lugar a tres formas clínicas principales:

Infección primaria

La gran mayoría de primoinfecciones (80-100 %) son asintomáticas y se producen en edades precoces; sólo serían detectables por intradermorreacción o al observar lesiones pulmonares calcificadas, meses después del contagio. La infección primaria aguda aparece en el niño con un cuadro pseudogripal («fiebre del verano») poco característico: fiebre, malestar, dolores musculares, disnea, pérdida de peso, tos, sudores, etc. En la radiografía aparecen adenopatías bilaterales hiliares y lesiones difusas y pequeñas en ambos pulmones, por lo que se plantean problemas diferenciales con tuberculosis y cáncer.

Histoplasmosis severa diseminada

Aparece en niños menores de 1 año e inmunodeprimidos. Se observan lesiones bucogenitales, adenopatías, hepatoesplenomegalia, fiebre y pérdida patente de peso. Las complicaciones de endocarditis o meningitis no son raras. Las lesiones pulmonares son mínimas o nulas.

Histoplasmosis crónica pulmonar

Típica de individuos adultos, se caracteriza por la aparición de cavernas en lóbulos pulmonares superiores, con tos y hemoptisis, por lo que el cuadro es muy similar a la tuberculosis. Evoluciona crónicamente a formas diseminadas.

La histoplasmosis por *H. capsulatum* var. *duboisii* produce afecciones en la piel, ganglios linfáticos y huesos craneales, y aparece en Africa tropical. Las lesiones van acompañadas de nódulos subcutáneos con tendencia a la ulceración, y la evolución puede ser lenta y benigna, o mortal por diseminación.

Diagnóstico

Para la observación de *H. capsulatum*, la toma de la muestra se recomienda en medula ósea, bazo y ganglios, ya que *Histoplasma* es un parásito del reticuloendotelio. Más rara vez puede hallarse en células de hígado, pulmón, pared intestinal, riñón y mucosas de la boca o genitales. Para el cultivo y aislamiento se recogerá el primer esputo de la mañana, orina, lavado gástrico, sangre, etc.

La demostración de la presencia intracelular del hongo requiere la tinción de Gram o Giemsa, y se observan levaduras de 2 a 5 µm, esféricas u ovales en el interior de células reticuloendoteliales, leucocitos o células gigantes. La

Tabla 71-1. Principales micosis sistémicas y subcutáneas

Enfermedad	Agente productor	Estado perfecto
Micosis sistémicas		
Hongos patógenos		
Histoplasmosis	*Histoplasma capsulatum*	*Emmonsiella capsulata*
Blastomicosis	*Blastomyces dermatitidis*	*Ajellomyces dermatitidis*
Paracoccidioidomicosis	*Paracoccidioides brasiliensis*	
Coccidioidomicosis	*Coccidioides immitis*	
Hongos oportunistas (cap. 69)		
Criptococosis	*Cryptococcus neoformans*	*Filobasidiella neoformans*
Aspergilosis	*Aspergillus* spp.	
Candidiasis sistémicas	*Candida* spp.	
Mucormicosis	*Mucor* spp., *Rhizopus* spp.	
Micosis subcutáneas		
Esporotricosis	*Sporothrix schenckii*	
Cromomicosis	*Phialophora* spp., *Fonsecaea* spp., *Cladosporium*, spp.	
Ficomicosis	*Mucor* spp., *Absidia* spp., *Basidiobolus*, spp. *Conidiobolus* spp.	
Rinosporidiosis	*Rhinosporidium seeberi*	
Lobomicosis	*Loboa loboi*	
Feomicosis	*Cercospora* spp., *Phialophora* spp.,	
Maduromicosis	*Allescheria boydii*, *Madurella*	

pared es gruesa y pueden comprobarse algunas células hijas unidas a la madre, con tamaños variables. El núcleo excéntrico es bien visible. La tinción por anticuerpos fluorescentes puede ayudar a un diagnóstico exacto. Deberá establecerse el diagnóstico diferencial con *Leishmania donovani*.

El cultivo de material clínico puede realizarse en agar-sangre con antibióticos, agar-Sabouraud o agar alcalino de Smith. Los cultivos se incuban a 25-30 °C y dan lugar a colonias, primero, levaduriformes y, de 2 a 4 semanas después, filamentosas, algodonosas y blanquecinas. En ellas aparecen típicas macroaleuriosporas, de 8-16 µm, con pequeñas proyecciones alrededor (fig. 71-1), y microaleuriosporas, de 2-5 µm, lisas y piriformes (tabla 71-2). El paso a forma de levadura puede conseguirse añadiendo sangre o cisteína al medio BHI y colocando a 30-37 °C de incubación. En estos cultivos podemos comprobar la reproducción por gemación. Puede recurrirse a la inoculación experimental en el ratón blanco, en que se recupera el microorganismo de las lesiones, o en el hámster por vía intraperitoneal, que es muy sensible.

H. capsulatum var. *duboisii* es indistinguible de *H. capsulatum* en los cultivos por debajo de 25 °C. En los tejidos y cultivos a 35-37 °C da unas formas esféricas visibles por tinción de PAS o Gridley, de 7-15 µm de diámetro, que semejan el *Blastomyces dermatitidis*.

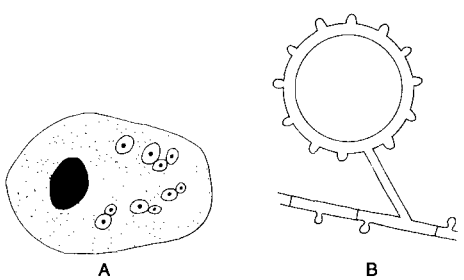


Fig. 71-1. *Histoplasma capsulatum*. A) Macrófago con blastosporas en su citoplasma. B) Cultivo a 20° de macro y microconidias.

El estado de ascomiceto (*Emmonsiella capsulata*) es heterotálico, y cuando cepas (+) y (–) se unen, dan lugar a cleistotecios con ascos característicos de *Gymnoascaceae*.

El diagnóstico indirecto se realiza por reacciones de fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta, gel-precipitación y aglutinación de partículas sensibilizadas, que demuestran la presencia y evolución de los anticuerpos. A las 2-4 semanas aparecen títulos significativos superiores a 1/32 en la primera de aquellas reacciones, que es la más usada, si bien existen reacciones cruzadas con otras micosis profundas. En geldifusión aparecen dos bandas de precipitación, la H (que indica histoplasmosis activa) y la M (que indica histoplasmosis antigua o haber realizado reacciones de histoplasmina).

La histoplasmina es una intradermorreacción que sirve para conocer el grado de infección reciente o no de una colectividad. Así, en áreas endémicas, es positiva en el 60-90 % de la población sana. En las formas diseminadas y graves se hace negativa (anergia).

Epidemiología

El hongo se encuentra en el suelo de ciertas áreas, húmedo, ácido, calizo o marmóreo y con temperaturas climáticas medias entre 20 y 30 °C, que retienen las esporas. Los pájaros y pollos, que no padecen la enfermedad por su alta temperatura corporal, sí llevan en sus alas las esporas, a una temperatura 7 °C más baja que la del cuerpo. En los excrementos de estos animales, que son el verdadero reservorio de la enfermedad, se encuentran en enorme cantidad las esporas. Gran cantidad de mamíferos se han hallado parasitados.

La enfermedad es característica del sudeste de Norteamérica (valles del Mississipi y Ohio) y Centroamérica,

Tabla 71-2. Diferencias en los cultivos de las principales micosis producidas por hongos dimórficos

	Histoplasma capsulatum	*Blastomyces dermatitidis*	*P. brasiliensis*
Colonias a 25 °C en ASD			
Aspecto	Algodonosas, blancas o parduscas	Algodonosas y blancas, y luego pasan a marrón	Confluentes blancas y luego pasan a marrón
Microscopia			
Hifas	Ramificadas y septadas	Ramificadas y septadas	Septadas
Microaleuriosporas	2-5 µm, lisas y piriformes	2-6 µm, simples, lisas y piriformes	2-5 µm, muy escasas
Macroaleuriosporas	8-16 µm con pequeñas proyecciones	7-18 µm, sólo en cultivos viejos	
Colonias a 37 °C en BHI			
Aspecto	Cremosas	Cremosas, céreas	Cremosas
Microscopia			
Células gemantes	Pequeñas (2-5 µm)	Grandes (8-15 µm), con doble contorno y yemas de amplia base	Grandes (30-60 µm), con múltiples yemas (de 1-3 µm) alrededor en forma de timón

ASD: Agar-Saboraud-dextrosa.

pero también se ha descrito en Europa y Australia, siempre en zonas templadas y tropicales.

La histoplasmosis africana aparece en este continente entre las latitudes 15° N y 10° S, eminentemente tropicales. No se ha aislado el agente productor del suelo ni de las excretas de aves, y la puerta de entrada podría ser cutánea o aérea.

COCCIDIOIDES IMMITIS

La coccidioidomicosis, fiebre del valle o reumatismo del desierto, es una enfermedad respiratoria aguda, que en la mayoría de los casos da lugar a infecciones inaparentes, pero, en algunos individuos tras una diseminación hematógena, afecta los huesos, vísceras y piel. El agente causal es un hongo dimórfico, que en los tejidos afectados aparece en forma de esporangio de 20 a 200 µm (30 a 60 µm por término medio), en cuyo interior se observan esporangiosporas, de 2 a 5 µm.

En los cultivos y en el medio ambiente (suelo, polvo) se presenta como un hongo micelial con típicas cadenas de artrosporas, que se separan por abstricción. No se le conoce estado sexuado, aunque el proceso asexual que posee sugiere que se trata de un ficomiceto.

Acción patógena

Tras la inhalación de artrosporas y un período de incubación de 1 a 4 semanas, pueden aparecer los siguientes hechos:

Infección pulmonar primaria

Puede cursar sin ninguna sintomatología (60 % de los casos) o con un cuadro semejante a una gripe o neumonía. Existe fiebre, tos, malestar general, dolorimiento, anorexia, etc. Al examen radiográfico pueden aparecer lesiones tipo infiltrado o claramente nodulares (2-3 cm), que coinciden con un viraje de la intradermorreacción a la coccidioidina. En mujeres aparecen a menudo manifestaciones cutáneas alérgicas, del tipo eritema nudoso.

Enfermedad diseminada

En un 1 ‰ de los casos anteriores puede aparecer coccidioidomicosis por diseminación hematógena a partir del pulmón. Así, se encuentran lesiones en la piel (que pueden llegar a granulomas muy manifiestos), huesos, articulaciones y vísceras. La enfermedad cursa de forma crónica con agravaciones y remisiones, y la meningitis o cuadro miliar agudo son de muy mal pronóstico.

Infección cutánea primaria

Es muy rara y se debe a la inoculación directa en la piel de las artrosporas, por pinchazos con plantas y agujas contaminadas. Da lugar a un nódulo indoloro e indurado, con adenitis regional que cura por sí sola.

La enfermedad subclínica o manifiesta deja una inmunidad duradera.

Diagnóstico

En el esputo o lesiones dérmicas, *C. immitis* aparecen como cuerpos esféricos, de 20 a 200 µm de diámetro, que contienen esporangiosporas, de 2 a 5 µm, en su interior; pueden apreciarse por tinciones de Giemsa y azul de lactofenol; en las lesiones dérmicas, el estudio histopatológico también demuestra las estructuras citadas teñidas por hematoxilina-eosina, PAS o plata.

El cultivo en medios usuales o específicos (agar-Littman, medio de Smith) es rápido, de 3 a 5 días, y mejor a 25 que a 37 °C. Las colonias son primero glabrosas y no poseen esporas; pero luego se vuelven blancas y lanosas, cargadas de artrosporas, de 2-3 por 3-4 µm, como pequeños barriles unidos en cadenas (fig. 71-2). El ratón blanco es muy sensible por vía intraperitoneal y el cobayo lo es por vía intratesticular; en ellos, las artrosporas inoculadas se transforman en esférulas, lo que también puede conseguirse en medios de cultivo especiales.

Histopatológicamente puede demostrarse en las lesio, se el típico granuloma coccidioide. El diagnóstico indi o no, permite la utilización de reacciones serológicas del t

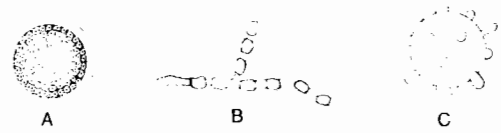


Fig. 71-2. *Coccidioides immitis.* A) Esférula con esporangiosporas en su interior. B) Artrosporas en el suelo y cultivos. C) Elemento típico de *P. brasiliensis* en los tejidos y cultivos a 37 °C.

tex, gelprecipitación y fijación del complemento. La coccidioidorreacción es de utilidad para investigar el grado de infección en las zonas endémicas. El antígeno se prepara a partir de filtrados de los cultivos y la reacción se considera positiva a partir de los 5 mm de induración.

Epidemiología

Esta micosis está limitada a zonas desérticas de América, como ciertos estados del sudoeste norteamericano (California, Texas, Arizona, Nuevo México, Utah y Nevada), así como México, Guatemala, Honduras, Colombia, Venezuela, Paraguay y Argentina. Afecta más a los hombres que a las mujeres, y la coccidioidomicosis diseminada es más frecuente en la raza negra y filipina.

Numerosos animales (roedores, ganado vacuno, perros) pueden infectarse por la misma vía que el hombre; inhalación de artrosporas a partir del suelo de las áreas semiáridas y calientes, en las que pueden subsistir hasta los 60 °C y con altas concentraciones de sales.

BLASTOMYCES DERMATITIDIS

La blastomicosis, enfermedad de Gilchrist, de Chicago o del río Mississipi, es una infección crónica, granulomatosa y supurada, que afecta principalmente el pulmón, piel y huesos, y está producida por un hongo dimórfico, *B. dermatitidis*, a partir del suelo de extensas áreas de América y Africa.

Acción patógena

La infección se produce por dos vías, la respiratoria (95 % de los casos), luego generalizada, y la cutánea, primaria o secundaria.

La blastomicosis generalizada, con puerta de entrada pulmonar, da una sintomatología respiratoria subaguda con tos, dolor, fiebre no muy alta, disnea y esputo hemoptoico. Estos síntomas progresan con el curso de la enfermedad y a ellos se unen los de diseminación del hongo en huesos (vértebras y costillas principalmente, con focos de osteólisis), piel, hígado, bazo, riñones, sistema nervioso central y aparato urogenital.

La blastomicosis cutánea primaria aparece en áreas descubiertas, como cara, manos, pies, etc., en forma de lesión ndolora, tipo chancriforme, purulenta y de crecimiento ial; los bordes verrugosos muestran multitud de mi-
Fig. 7 scesos muy ricos en *B. dermatitidis*. Va acompañada de ras e gitis y adenitis regional, con ganglios purulentos también ricos en hongos. La forma secundaria es similar, pero de aparición en zonas cubiertas y sin componente linfangítico.

Diagnóstico

A partir del pus de los bordes de las lesiones dérmicas, del esputo, orina, LCR, etc., puede efectuarse una observación directa. Se trata de células redondeadas, de 8-15 µm de diámetro, con pared gruesa y una o varias yemas hijas adosadas; el diámetro de esta unión es muy amplio (4-5 µm) a diferencia de la de otras levaduras (*H. capsulatum, P. brasiliensis*), y a veces es imposible distinguir por su igual tamaño, la célula madre e hijas (fig. 71-3).

Los cultivos en agar-glucosa-carne con cloranfenicol o cicloheximida a 37 °C dan unas colonias rugosas, aéreas, blancoamarillentas, de levaduras similares a las tisulares, con gran base de implantación. A veces se observan intentos de filamentos miceliares, muy cortos, como si el hongo tratara de desarrollar dicha fase en el medio. En agar glucosado-Sabouraud a 25-30 °C predomina la fase miceliar del hongo, dando colonias aéreas blanco-algodonosas, ricas en filamentos miceliares, segmentados, ramificados y corémicos, tipo *Chrysosporium*; sobre estos filamentos directamente o por conidióforos de 1-10 µm nacen microaleuriosporas, de 3-5 µm, de característica pared doble, redondos u ovales. El cambio de fase en los cultivos es fácil. La inoculación experimental puede realizarse en ratón blanco por vía peritoneal o mejor intratesticular.

En medios adecuados (con extracto de tierra y harina de avena) se puede conseguir el estado sexual del hongo, que es de la familia *Gymnoascaceae: Ajellomyces dermatitidis*. Se caracteriza por la presencia de ascocarpos rodeados por espirales globulosas y con 8 ascosporas, de 1-2 µm de diámetro. Los ascos se hallan en un cleistotecio, sostenidos por ramas fértiles. Difiere de *Emmonsiella capsulata* en las hifas peridiales, que forman una «jungla de gimnasio».

Histopatológicamente, esta micosis se caracteriza por la formación de abscesos, rodeados por una infección crónica granulomatosa e hipertrofia epitelial manifiesta.

El diagnóstico serológico se basa en la demostración de anticuerpos por reacciones de fijación del complemento, gelprecipitación, látex, hemaglutinación o fluorescencia. Las reacciones intradérmicas con blastomicina o mejor con cultivos a 37 °C, calentados 4 horas a 60 °C, indican el grado de infección de una colectividad.

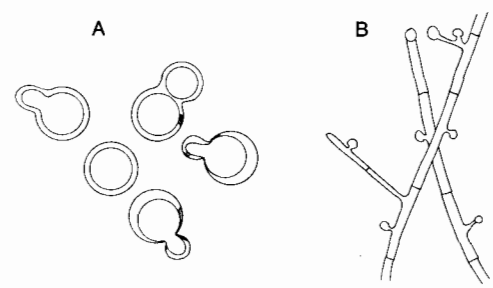


Fig. 71-3. *Blastomyces dermatitidis.* A) En localización tisular o en cultivos a 37 °C. B) En cultivos a 20°.

Epidemiología

La enfermedad afecta fundamentalmente a hombres de edades comprendidas entre 30 y 50 años, principalmente agricultores, granjeros y cazadores. Es típica de Estados Unidos (cuencas de los ríos Mississipi, Ohio, Missouri y San Lorenzo), Canadá y México, y en Africa desde Marruecos hasta Sudáfrica. El hongo es saprófito del suelo, y los sujetos se infectarían por inhalación o inoculación dérmica accidental. Se han descrito perros, gatos y otros animales domésticos infectados por *B. dermatitidis*.

PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS

La denominada blastomicosis sudamericana o paracoccidioidomicosis es una enfermedad de la piel, mucosas y órganos profundos, producida por un hongo dimórfico, de aparición en Brasil y otros países de América del Sur.

Acción patógena

La puerta de entrada es respiratoria o mucocutánea, y se han descrito múltiples formas clínicas que pueden resumirse en dos: formas superficiales y generalizadas.

La forma superficial o mucocutánea puede aparecer en la boca o sus alrededores, lengua, labios, encías y faringe; la lesión comienza con una pápula que se ulcera, se extiende por los bordes destruyendo los tejidos que encuentra en su avance y es muy dolorosa. Las lesiones cutáneas son verrugosas y ulceradas. Siempre aparece la linfangitis de la zona y los ganglios están hipertróficos, dolorosos e incluso fistulizados.

La forma generalizada, a partir de la piel, mucosa bucal o pulmones, puede cursar con síntomas respiratorios, gastrointestinales (úlceras de intestino), óseos o nerviosos. Se produce diseminación hematógena y el estado general es malo y puede llevar a la muerte en 2-3 años.

Diagnóstico

La toma se hará a partir de los abscesos, secreciones, esputos o ganglios. La observación entre porta y cubre con potasa el 10 % o por tinciones permite ya la demostración de formas redondeadas con una o múltiples yemas de doble pared (0,2-1 μm) y cuello estrecho (fig. 71-2 C). Si la gemación es única, la célula madre (de unos 30 μm) y la hija (10-30 μm) no pueden diferenciarse de *B. dermatitidis*. Pero lo característico es la gemación múltiple con 2 a 12 yemas hijas, de 1-5 μm de diámetro, que se ha comparado con la rueda de un timón, el motor de un avión de hélice o la cabeza de Mickey Mouse (tabla 71-2). Hay numerosas células sueltas, de 4-5 μm, distribuidas en el tejido infectado, entre las más grandes descritas.

Histopatológicamente aparece un granuloma típico paracoccidioide con microabscesos, células gigantes con levaduras en su interior y gran reacción inflamatoria crónica y granulomatosa.

En el cultivo a 37 °C en agar-sangre-BHI o similares, aparecen unas colonias lisas, cremosas y cerebriformes, formadas por elementos levaduriformes, de gemación múltiple, antes citados. En el agar-Sabouraud a 25 °C se desarrollan lentamente en 1-3 semanas y dan la forma micelial, con una colonia rugosa recubierta en su zona central por un micelio aéreo de blanco a pardusco. Microscópicamente, esto no es característico, ya que da filamentos ramificados y segmentados que dan lugar a microaleuriosporas ovales o redondas, semejantes a *B. dermatitidis*.

El cobayo por vía intratesticular y el ratón blanco o hámster por la peritoneal son muy sensibles, sobre todo si se mantienen los animales a 18 °C.

El diagnóstico serológico se establece por fijación del complemento frente a un antígeno polisacárido muy específico, gelprecipitación y fluorescencia. La intradermorreacción a la paracoccidioidina comprueba que en las zonas endémicas existen reactivos, por lo que se considera que en muchos sujetos la infección no va seguida de enfermedad.

Epidemiología

El hombre se contagia por el aire o mucosas, a partir del suelo y vegetales. Son más susceptibles los trabajadores agrícolas y granjeros, y por ello esto es más frecuente en varones adultos (90 % de los casos).

Aparece en Brasil (estado de São Paulo) y con menor incidencia en Venezuela, Colombia, Perú, Ecuador, Uruguay y Paraguay. Se han descrito algunos casos en América Central y México. El suelo de estas áreas requiere ciertas características, como la acidez, una temperatura media anual de 23 °C, entre 500 y 1.000 m de altura y una pluviosidad entre 800 y 2.000 l/mm³ al año (estudios en el área de Paracotos, Venezuela).

SPOROTHRIX SCHENCKII

La esporotricosis es una micosis granulomatosa crónica, caracterizada por una lesión primaria ulcerosa en el lugar de inoculación, que se extiende a todo un miembro por vía linfática. Está producida por *S. schenckii*, que es un hongo dimórfico, ya que a temperatura ambiente (25 °C) produce típicos racimos de microconidios y a 37 °C, unas formaciones levaduriformes ovales o esféricas, de 2-6 μm.

Acción patógena

Un porcentaje muy alto de los individuos expuestos a la infección no padecen ningún tipo de enfermedad clínica. Este hecho podría deberse a infecciones con muy pocas esporas o de baja virulencia; por esto, los cuadros clínicos aparecen con más frecuencia en individuos desnutridos o inmunodeficientes.

Tras un período de incubación de 1-6 meses, la forma clínica más frecuente (75 % de los casos) es la cutáneo-linfática, como consecuencia de la entrada por la piel de las esporas: aparece un nódulo móvil, rosáceo, subcutáneo, de localización preferente en las extremidades (chancro esporotricótico).

Tras 7 a 15 días se ulcera y libera un pus estéril, a la vez que el trayecto linfático que drena la zona se endurece, se comprueba al tacto un reguero de nódulos, ulcerados o no, hasta la axila o ingle.

Otro cuadro menos frecuente (20 %) es el cutáneo sin afectación linfática, que puede aparecer en cualquier localización en forma de lesiones papuloverrucosas. Las cepas aisladas de estos casos han demostrado su incapacidad para crecer a 35 °C, por lo que sería imposible la diseminación linfática. La esporotricosis ósea, con artritis y osteítis destructivas, aparece secundariamente a lesiones cutáneas anteriores. La afectación pulmonar, frecuente en alcohólicos, da cuadros cavitarios similares a la tuberculosis. La esporotricosis diseminada es rara y aparece en individuos inmunodeprimidos, sometidos a corticoterapia, diabéticos o sarcoidóticos.

Diagnóstico

La toma se realizará a partir de las lesiones cutáneas o tisulares. Se efectúan tinciones de Gram o Giemsa, y pueden observarse levaduras ovales, de 2-6 µm; en los tejidos, las formas de *S. schenckii* son más alargadas como cigarros de hasta 10 µm o en forma de cuerpos asteroides.

Los cultivos totalmente imprescindibles para el diagnóstico se realizan en medios usuales a 37 °C (colonias cremosas a negras, formadas por levaduras gemantes de 2-5 µm) o mejor a 25 °C, en los que en 4 ó 5 días dan colonias glabrosas más o menos coloreadas, formadas por finas hifas de 2 µm de anchura y microaleuriosporas de 2-3 µm, que nacen en racimos de conidióforos o directamente de las hifas (fig. 71-4). La inoculación experimental en roedores por vía intraperitoneal puede ayudar al diagnóstico.

Existe una variedad, *S. schenckii* var. *luriei*, con unos microaleuriosporas mayores (10 µm) y que en los tejidos da células más anchas, de 15-22 µm de diámetro.

Se pueden realizar estudios histopatológicos, que demuestran granulomas inespecíficos muy escasos en levaduras. Las reacciones serológicas de aglutinación, látex, precipitación, fluorescencia y fijación del complemento sirven para el diagnóstico y control del tratamiento. La reacción cutánea de hipersensibilidad se usa para conocer el grado de infección de la población.

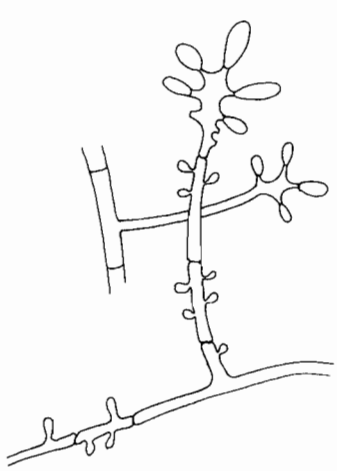


Fig. 71-4. Cultivo de *Sporothrix schenckii* a 25 °C. Obsérvense los ramos de microconidias al final de los conidióforos y a lo largo de las hifas.

Epidemiología

La esporotricosis es una micosis subcutánea, de distribución mundial, con mayor prevalencia en Centroamérica, Norteamérica y Francia, en clara relación con profesiones como las de granjero, jardinero y horticultor, que manejan madera, cortezas, hojas, cañas, pajas, espinas, flores, frutas, etcétera. Por esto, el contagio parte del suelo, plantas y árboles, y las manos y piernas y mucho menos la inhalación de esporas son las puertas de entrada. Los animales, como perros, gatos, équidos, roedores, etc., también se han encontrado afectados.

OTRAS MICOSIS SISTEMICAS Y SUBCUTANEAS

Cromomicosis

La cromomicosis o dermatitis verrugosa es una infección crónica de la piel, caracterizada por la formación de nódulos cutáneos verrugosos y papulomatosos y que están producidos por diversos hongos dermatiáceos o pigmentados.

Los hongos se introducen por la piel de los miembros inferiores, mediante un traumatismo manifiesto o no, y tras varios meses o años, y dan primero una pápula violácea y posteriormente lesiones a lo largo de los linfáticos superficiales de la zona. Son nódulos duros, más o menos rojizos, de aspecto de coliflor y no dolorosos; la infección se circunscribe a los tejidos cutáneo y subcutáneo.

Es una enfermedad de distribución mundial, típica de las zonas tropicales y subtropicales, en cuyo suelo, maderas y vegetales en descomposición se encuentra el hongo.

El cuadro está producido por diversos hongos pigmentados de color negro, entre los que se encuentran *Phialophora verrucosa, P. dermatitidis, Fonsacaea pedrosoi, F. compactum* y *Cladosporium carrionii.*

El diagnóstico se realiza por la comprobación de los hongos en los tejidos y exudados en forma de células redondas, de 5 a 15 µm de diámetro, con gruesa pared y color marrón oscuro o negro, que se multiplican por septación. En los tejidos aparece alrededor de estos racimos de células un granuloma de cuerpo extraño. Los cultivos en medios usuales y a 25 °C dan colonias marrones a negras, formadas por micelios y conidios, que permiten el diagnóstico de género y especie. Las fiálides son características del género *Phialophora* (fig. 69-7 A); los conidios en cadenas largas y ramificadas se observan en *Cladosporium* y de forma muy variable en *Fonsecaea.*

Ficomicosis

Son unas afecciones crónicas del tejido subcutáneo y paredes de los vasos, producidas por hongos contaminantes en sujetos con enfermedades del sistema inmune (neoplasias, leucemias) o endocrinas (diabetes). Los cuadros se caracterizan por tumores no ulcerados en muy diversas localizaciones. Así, existen el cuadro subcutáneo puro y las ficomicosis pulmonar, cerebral, digestiva y nasal.

Los hongos productores pertenecen a géneros muy variados, entre los que destacan *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Mortierella*, *Entomophothora* spp., *Basidiobolus* y *Conidiobolus*. Todos ellos pertenecen a la subdivisión *Zygomycotina*. El diagnóstico se realiza a partir de las lesiones y se comprueba en los cultivos en que a 37 °C y rápidamente crecen las especies descritas que se diferencian por sus esporangióforos y esporangios (fig. 69-9).

La ficomicosis subcutánea por *Basidiobolus haptosporus* es típica de Africa y Asia tropicales, mientras que la rinoficomicosis producida por *Conidiobolus coronatus* aparece en Africa, Asia y América, también en zonas tropicales.

Rinosporidiosis

Es una infección de las mucosas de la nariz, ojos, oídos y genitales, que se caracteriza por la aparición de pólipos friables, sésiles o pediculados. Aparece en el sur de la India y Brasil, con casos esporádicos o importados en el resto del mundo.

El agente productor, *Rhinosporidium seeberi*, no ha sido aún cultivado ni transmitido por inoculación experimental. El diagnóstico se realiza por la comprobación de unos voluminosos esporangios, de 300-400 µm, llenos de pequeños cuerpos redondos, de 6-7 µm de diámetro, que deben ser las esporas infectantes; éstos pueden visualizarse en las masas polipoides, exudados o secreciones nasales.

Lobomicosis

La enfermedad de Lobo es una micosis subcutánea crónica de la piel, que cursa con tumoraciones fibrosas o queloides. Está producida por *Loboa loboi*, que aparece en forma de elementos de 10 µm de diámetro, con una gruesa pared doble y unidos entre sí en cadena o por puentes visibles, que unen unas células a otras. Nunca hasta el momento ha sido cultivado.

Este cuadro es autóctono de ciertos estados del Brasil y de Surinam.

Feomicosis

Son enfermedades del tejido subcutáneo y vísceras profundas, provocadas por más de 16 especies de hongos hifomicetos procedentes del suelo, en amplias regiones del mundo.

El cuadro clínico es el de un absceso subcutáneo profundo, de varios centímetros de diámetro, que no se ulcera y puede tener cualquier localización. El diagnóstico se establece por aspiración del pus de la lesión, donde aparecen hifas septadas, de 8 a 10 µm de diámetro. Entre las especies productoras se encuentran *Phialophora*, spp., *Cercospora* spp., *Phoma* spp., etc.

Maduromicosis

El pie de Madura o micetoma es una infección crónica deformante y progresiva, producida por unas 20 especies de hongos, en la que destaca clínicamente una lesión granulomatosa, que vierte al exterior gránulos de color amarillo, rojo o negro, que semeja las lesiones por *Actinomyces*. Es una enfermedad de zonas tropicales y subtropicales de todos los continentes, y el mecanismo de infección se produciría a partir del suelo, a través de una lesión o herida en pies, piernas o manos.

Las lesiones pueden progresar hacia los huesos o diseminarse por la corriente sanguínea al cerebro, pulmones, etc. Los gránulos de pus coloreado demuestran poseer clamidiosporas e hifas septadas y deben de sembrarse para su identificación. Los hongos productores se recogen en la tabla 71-3.

Tabla 71-3. Hongos involucrados en la etiología de maduromicosis

Monosporium apiospermum (*Allescheria boydii*)	*Phialophora jeanselmei*
Madurella mycetomii	*Fusarium solanae*
Madurella grisea	*Aspergillus nidulans*
Cephalosporium falciforme	*Aspergillus bouffardi*
Cephalosporium recifei	*Curvularia lunata*
Cephalosporium granulomatis	*Curvularia geniculata*
Pyrenochaeta romeroi	*Penicillium mycetogenum*
Leptosphaeria senegalensis	*Neotestudina rosatii*
	Dreschlera spp.

TRATAMIENTO GENERAL DE LAS MICOSIS PROFUNDAS ESTUDIADAS

Anfotericina B

Es un antibiótico poliénico (fig. 71-5) que se utiliza en clínica en suspensión coloidal en suero glucosado isotónico y desoxicolato sódico. Actúa sobre los esteroides lipófilos de la membrana citoplásmica de los hongos. Su tratamiento debe ser hospitalario. Los viales con 50 mg se disuelven en el suero glucosado al 5 % y se introducen en 500 ml de suero glucosado, controlando que el pH sea superior a 5 y que no le dé la luz.

La perfusión intravenosa se realizará lentamente y en dosis crecientes de 0,25 mg/kg el primer día y se aumentará 0,25 mg/kg por día hasta un máximo de 1 mg/kg de peso y día.

Es el antibiótico de primera elección en histoplasmosis, coccidioidomicosis, paraccocidioidomicosis, blastomicosis, esporotricosis, ficomicosis, rinosporidiosis, maduromicosis y torulopsosis (v. *Candida* y *Criptococcus* en cap. 72).

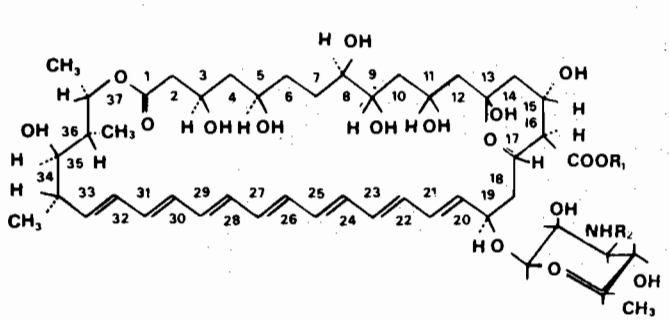


Fig. 71-5. Fórmula estructural de la anfotericina B.

En las otras micosis subcutáneas también puede estar indicado.

Otros antibióticos

Otros antibióticos útiles pueden ser la nistatina en infecciones por *Histoplasma* y *Blastomyces*, pimaricina en *Mucor* y *Aspergillus*, y saramicetina en *Histoplasma* y *Blastomyces*.

La 2-hidroxiestilbamidina es muy útil en *Blastomyces* y la 5-fluorocitosina, en *Torulopsis*, *Cladosporium* y *Aspergillus*. De los derivados imidazólicos destacan el clotrimazol en *Aspergillus* e *Histoplasma* y el miconazol con amplia actividad en *Sporothrix*, *Aspergillus*, *Coccidioides* y *Paracoccidioides*.

Los yoduros (INa) aún son útiles en esporotricosis, ficomicosis y cromomicosis.

Las asociaciones de antibióticos se han ensayado con éxito, como anfotericina B-fluorocitosina o anfotericina B con tetraciclina o rifampicina.

BIBLIOGRAFIA

Al-Doory, Y.: Laboratory Medical Mycology. Lea and Febiger, Philadelphia, 1980.

Altuna, A., y Rodríguez, E.: *Criptococcus neoformans*. Laboratorio, 74, 191-210, 1982.

Campbell, M. C., y Stewart, J. L.: The Medical Mycology Handbook. Wiley, New York, 1980.

Deacon, J. W.: Introduction to Modern Mycology. Basic Microbiology, vol. 7. Blackwell, Oxford, 1980.

García de Lomas, J.: Micosis subcutáneas y profundas. Orientaciones diagnósticas. Laboratorio, 74, 119-164, 1982.

Hay, R. J.: The Treatment of Systemic Mycoses caused by Specific Pathogenic Fungi. En Speller, D. C. E. (dir.): Antifungal Chemotherapy. Wiley, Chichester, 1980.

Kwon-Chung, K. J., y Hill, W. B.: Sexuality and pathogenicity of *Filobasidiella neoformans*. En Vanbreuseghem, R., y de Vroey, Ch. (dirs.). Sexuality and Pathogenicity of Fungi. Masson, Paris, 1981.

Langeron, M., y Vanbreuseghem, R.: Précis de Mycologie. Masson, Paris, 1952.

Noguera, J. M.: Diagnóstico serológico en micología. Laboratorio, 74, 165-189, 1982.

Rippon, J. W.: Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes, 2.ª ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1982.

Capítulo 72

Hongos oportunistas

José Angel García-Rodríguez

Los géneros *Candida, Cryptococcus, Torulopsis, Rhodotorula, Aspergillus, Mucor, Rhizopus* y *Absidia* incluyen hongos de distribución cosmopolita y que son importantes en patología médica. Producen una amplia variedad de formas clínicas en pacientes en quienes se dan factores favorecedores, razón por la cual se les denomina hongos oportunistas.

TAXONOMIA

En los hongos imperfectos *(deuteromycotina)* de la clase *Blastomycetes* se encuentra la familia *Cryptococcaceae* con varios géneros de importancia médica, entre los que destacan *Candida, Torulopsis y Cryptococcus.*

Las levaduras de la familia *Cryptococcaceae* producen gemaciones y pueden formar pseudomicelio o verdadero micelio, o ambos. En esta familia de levaduras se encuentran las formas imperfectas de ascomicetos y basidiomicetos.

La clasificación en géneros se realiza fundamentalmente por las características morfológicas y también por las propiedades fisiológicas (fermentación y utilización de azúcares). La capacidad de asimilación del inositol se correlaciona muy a menudo con la propiedad de formar compuestos similares al almidón en la cápsula *(Cryptococcus neoformans).*

En muchas de las especies no se ha descubierto aún la forma de reproducción sexual, lo que dificulta la clasificación de estos hongos.

Aunque el género *Candida* tiene al menos 81 especies, *Candida albicans* es el agente etiológico que produce con mayor frecuencia candidiasis. Pero se aíslan también otras especies: *C. tropicalis, C. stellatoidea, C. parapsilosis, C. pseudotropicalis, C. guilliermondii, C. krusei* y *C. zeylanoides.*

Género Candida: Candida albicans

Las manifestaciones clínicas producidas por los hongos del género *Candida,* en personas debilitadas, se conocen desde tiempos de Hipócrates. El agente etiológico no se descubrió hasta 1839, en que Lagenbeck encontró la levadura en lesiones micóticas; posteriormente, en 1842, Gruby describió el verdadero agente causal del muguet de los niños.

En las últimas décadas del presente siglo se ha producido un incremento de todas las formas clínicas de candidiasis y en concreto de las sistémicas y endocarditis por la existencia de factores yatrógenos que favorecen la aparición de estas micosis.

HABITAT

C. albicans, el hongo más patógeno de este género, es habitualmente de procedencia endógena. Tiene una distribución natural muy restringida. Se encuentra en el hombre y otras especies animales, en vegetales y en el suelo.

En la especie humana, *C. albicans* forma parte de la flora microbiana de la boca y tubo digestivo. En la mujer se localiza, además, en la vagina, con mayor frecuencia durante el embarazo. Los demás microorganismos de la flora digestiva y vaginal ejercen un control sobre *C. albicans* (quizá por medio de sustancias inhibidoras), que disminuyen o desaparecen por el uso de antibióticos, anovulatorios u otras sustancias que alteran el equilibrio ecológico de la flora microbiana habitual. También una dieta elevada en frutas parece que incrementa el número de levaduras intestinales.

En la piel sana existen levaduras, pero no se encuentra *C. albicans.* Las especies de *Candida* que existen a nivel cutáneo son muy poco patógenas, pero se han aislado en determinadas formas clínicas (endocarditis, vaginitis y onicomicosis).

C. albicans, no obstante, cuando encuentra en la piel condiciones favorables para su desarrollo (quemaduras, heridas, maceración, humedad, etc.) coloniza y se multiplica.

MECANISMOS DE DEFENSA DEL HUESPED FRENTE A CANDIDA SPP.

En la defensa frente a la infección por hongos del género *Candida* intervienen barreras naturales inespecíficas y mecanismos adquiridos específicos. Entre las primeras tienen

gran importancia, como barreras externas, la piel y mucosas. Cuando son superadas éstas y los microorganismos alcanzan el torrente circulatorio, interviene otro mecanismo inespecífico, que es la fagocitosis. Se produce la captación y destrucción de levaduras y pseudohifas por los neutrófilos, monocitos y eosinófilos. En los neutrófilos parece que existen dos mecanismos de destrucción de candidas, uno de ellos mediado por mieloperoxidasas. Se ha señalado, además, que los gránulos de los neutrófilos producen proteínas catiónicas, similares a la quimiotripsina, que parecen actuar incrementando la permeabilidad de la membrana de las levaduras.

Experimentalmente, el papel de los macrófagos alveolares o peritoneales en la destrucción de candidas ha sido muy discutido y aún debe ser estudiado, ya que su mecanismo no es mediado por mieloperoxidasas.

El complemento y, en concreto, la fracción C_3 tienen un papel importante en la fagocitosis de las levaduras por los neutrófilos, principalmente cuando no existen anticuerpos IgG específicos frente a *C. albicans*.

También se ha demostrado que las proteínas del suero, a las que se fija el hierro, inhiben el crecimiento de *Candida*, posiblemente porque el hongo requiere este factor para su crecimiento.

En lo que se refiere a las defensas específicas, si bien es cierto que se producen anticuerpos específicos frente a *C. albicans*, su papel defensivo para el organismo es muy discutido, ya que, aunque algunos autores opinan que las IgG anticandida favorecen la fagocitosis por los neutrófilos, otros incluso señalan que altos títulos de anticuerpos pueden inhibir la muerte celular de las levaduras ingeridas.

No obstante, se ha observado que la presencia de anticuerpos frente a *Candida* sp. en el suero impide la aglutinación de las levaduras, que se produce en este medio.

Se ha señalado el papel de los linfocitos en los pacientes con candidiasis mucocutánea crónica, en los cuales se detecta un déficit de la inmunidad mediada por células T. Los linfocitos estimulados por mitógenos producen una linfoquina que destruye *C. albicans*. Se cree que puede existir también frente a *C. albicans* un mecanismo, similar al observado frente a *Cryptococcus neoformans*, de cooperación entre linfocitos y macrófagos.

Tabla 72-1. Factores favorecedores de las candidiasis

Factores intrínsecos
Fisiológicos
Edad
Recién nacidos
Ancianos
Embarazo
Patológicos
Carcinoma
Leucemia
Linfoma
Enfermedad de Hodgkin
Anemia perniciosa
Anemia aplástica
Agranulocitosis
Granulomatosis séptica familiar
Alteración de la inmunidad celular
Diabetes
Hipotiroidismo
Hipoparatiroidismo
Hipoadrenocorticismo
Malabsorción
Malnutrición
Enfermedades consuntivas
Factores extrínsecos
Medicamentosos
Inmunosupresores
Corticosteroides
Antimitóticos
Anticonceptivos
Antibioterapia antibacteriana
Antibioterapia antiparasitaria (metronidazol)
Médico-quirúrgicos o quirúrgicos
Cateterismo venoso o arterial
Cirugía cardiaca
Cirugía abdominal
Trasplante de órganos
Extracciones dentarias
Transfusiones
Físicos
Rayos X, quemaduras
Otros
Maceración
Infecciones
Drogadicción

Modificado de Drouhet (1972).

FACTORES FAVORECEDORES

Las levaduras del género *Candida*, incluso *C. albicans*, requieren un terreno especialmente favorable para su desarrollo. En la tabla 72-1 se relacionan los factores que favorecen la aparición de candidiasis. En concreto, algunos de los mecanismos más frecuentes serían:

1. Situaciones fisiológicas, en que las defensas inmunológicas no se encuentran en estado óptimo (recién nacidos, ancianos).
2. Estados patológicos o sus tratamientos, que producen un efecto inmunosupresor: leucemia, linfoma, antimitóticos, etcétera.
3. Empleo de antimicrobianos que condicionaría lo siguiente:

a) La destrucción de la flora normal con sobreinfección por levaduras, que son resistentes a estos agentes.

b) Alteración de la mucosa intestinal, con el paso de las levaduras a través de ella.

c) Disminución de la eficacia de los neutrófilos, para destruir candidas.

4. Uso de corticoides (solos o asociados a antibióticos). Suprimen la respuesta de los neutrófilos frente a *Candida* spp., impiden la migración de los neutrófilos o afectan la fagocitosis y digestión de las levaduras englobadas.
5. En otros casos, las barreras naturales externas han desaparecido o bien son superadas por diferentes mecanismos (manipulaciones médicas o quirúrgicas) y las levaduras alcanzan directamente el medio interno: quemaduras, drogadicción, catéteres, intervenciones quirúrgicas, etc.
6. El incremento de glucosa en los tejidos del organismo es un factor que favorece el desarrollo y multiplicación de *Candida*, circunstancia importante en diabéticos que padecen con frecuencia candidiasis.

DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD

No se conocen los factores que intervienen en el poder patógeno de las levaduras del género *Candida*. Aunque en el animal experimental se ha señalado que altas dosis de extractos de *C. albicans* poseen una actividad similar a la de las endotoxinas, este hecho no se relaciona claramente con su potencial patógeno.

Sí parece existir una clara relación entre la forma en que se presenta el hongo en las lesiones (levaduriforme o filamentosa) y su poder patógeno. La composición química, tanto cualitativa como cuantitativa, de ambas formas difiere. En las formas filamentosas parece existir mayor cantidad de mananos, que resultan tóxicos para el ratón. La forma filamentosa resiste mejor y por más tiempo que las levaduras a la digestión en neutrófilos y mononucleares. Además, se ha observado que las hifas de *C. albicans* liberan un factor que se une a la superficie del neutrófilo e inhibe el contacto entre ambos, y se evita así la destrucción del hongo.

También se ha señalado la posibilidad de que *C. albicans* tenga un efecto supresor de la inmunidad mediada por linfocitos T.

Por último, es preciso señalar que algunas sustancias del suero, aún desconocidas, favorecen la formación de formas filamentosas de *C. albicans*, aglutinando las levaduras e incrementando su patogenicidad.

También favorece el desarrollo de *Candida* spp. la existencia de hierro libre circulante.

CLINICA

Las especies de *Candida* pueden producir gran variedad de formas clínicas, que pueden agruparse en dos grupos: formas infecciosas y alérgicas. Las primeras son mucho más frecuentes y pueden localizarse a nivel superficial en mucosas y piel, o bien en tejidos u órganos profundos (tabla 72-2).

Candidiasis superficiales

Las infecciones superficiales por *Candida*, de procedencia endógena, se localizan en las mucosas, piel y uñas. La forma más habitual en patología humana es el muguet; las levaduras colonizan la mucosa bucal del recién nacido (que las adquiere en el momento del nacimiento al pasar por la vagina contaminada de la madre), pero también del niño e incluso del adulto, cuando existen unas condiciones favorecedoras.

Tabla 72-2. Localizaciones más frecuentes de candidiasis

Superficiales
- Mucosas
  - Tubo digestivo
    - Boca
    - Faringe
    - Esófago
    - Estómago
    - Intestino
  - Tracto genital
    - Vagina
    - Pene
  - Tracto urinario
    - Uretra
    - Vejiga
    - Uréteres
  - Vías respiratorias
    - Conducto nasolagrimal
    - Fosas nasales
    - Senos paranasales
    - Nasofaringe, laringe
    - Tráquea, bronquios
- Cutáneas
  - Intertrigo
    - Espacios interdigitales (manos y pies)
    - Pliegues génito-crurales (también genitales)
    - Piel perianal
    - Pliegues submamarios
    - Axilas
  - Otras localizaciones cutáneas
    - Uñas y pliegues ungueales
    - Comisuras bucales
    - Aparato auditivo externo
    - Cuero cabelludo
    - Córnea

Profundas
- Aparato digestivo
  - Esófago
  - Estómago
  - Intestino
- Aparato respiratorio
  - Pulmones
  - Arbol bronquial
- Sistema circulatorio
  - Válvulas cardiacas
  - Miocardio
  - Vasos sanguíneos
- Sistema urinario
  - Riñones
- Sistema nervioso central
  - Cerebro
  - Meninges
- Otros órganos
  - Hígado
  - Bazo
  - Páncreas

Modificado de Gentles y La Touche (1976).

En la boca del recién nacido, existe *Candida albicans* que puede multiplicarse porque el pH es bajo y, además, no se ha establecido aún una flora microbiana equilibrada. Cuando la colonización acontece en niños mayores, se debe a trastornos neuroendocrinos o a defectos en la función de las defensas naturales. En los adultos se favorece el desarrollo de *C. albicans* en la boca por las avitaminosis (en concreto, la deficiencia en riboflavina), diabetes, neoplasias o tratamientos médicos con esteroides, antibióticos u otros fármacos.

El muguet se caracteriza por la aparición de una pseudomembrana, blanca o cremosa, que cubre la lengua, paladar blando, mucosa bucal y otras superficies orales. Puede tratarse de placas únicas o múltiples confluentes, que, cuando se arrancan, ponen de manifiesto una base roja húmeda y brillante.

En las pseudomembranas se observan las candidas en forma de levaduras o de pseudohifas. Ocasionalmente, por contigüidad, el hongo puede invadir la tráquea y el esófago.

La colonización de la vagina por *C. albicans* ocurre con mayor frecuencia en mujeres embarazadas, diabéticas o las que están recibiendo tratamientos antibióticos u hormonales, en concreto anticonceptivos.

La vaginitis producida por *C. albicans* se caracteriza por la aparición de pseudomembranas blancogrisáceas en la mucosa vaginal y por un flujo blancoamarillento, en el que pueden observarse las levaduras o pseudohifas fúngicas, y va acompañada generalmente de prurito. La infección puede extenderse a la vulva y piel próximas. Además de *C. albicans*, pueden producir vaginitis *C. tropicalis*, *C. stellatoidea* y *C. pseudotropicalis*. Aunque, con mucho menor frecuencia, *C. albicans* puede colonizar la mucosa del pene y originar balanitis o balanopostitis.

Esta forma clínica aparece en hombres diabéticos y puede originarse porque la esposa del paciente padezca vaginitis recidivantes por *Candida albicans*. En el glande y en el surco balano-prepucial aparecen erosiones superficiales rojas y pústulas de pared fina. En ocasiones no se observan las levaduras en las lesiones, lo que hace pensar que se trate de una forma alérgica.

La infección de la piel y uñas se ve favorecida por dos tipos de factores, unos generales en relación con trastornos metabólicos (diabetes, obesidad, alcoholismo crónico) y otros locales en la piel (humedad [profesiones o trabajos que obligan a introducir las manos frecuentemente en agua], oclusión y maceración de la piel por contacto con vestidos o calzados ajustados).

Las lesiones se producen en zonas intertriginosas de la piel (axilas, ingles, pliegues submamarios, etc.) o bien sobre lesiones preexistentes. Se trata de zonas con una base eritematosa y borde festoneado con lesiones típicas, como «piel escaldada». La lesión está rodeada por erupciones satélites, que originan vesículas pequeñas, pústulas o bullas, que se rompen y dejan una superficie sin piel y con bordes desiguales.

Paroniquia y onicomicosis son formas frecuentes de candidiasis en personas que introducen frecuentemente los dedos en agua. La piel que rodea la uña se inflama, adquiere un aspecto eritematoso, y el individuo siente dolor. Cuando la paroniquia es crónica, *Candida* spp. puede llegar a invadir la uña, que aparece engrosada, pardusca o decolorada y con estrías, y, si no reciben tratamiento, el tejido de la uña se destruye. Además de *C. albicans*, pueden producir estas formas clínicas *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. guilliermondi*.

Los niños desarrollan en la región perianal la denominada «erupción del pañal», cuadro que se favorece por la falta de higiene y concretamente en lo que se refiere al cambio de los pañales húmedos del niño. La infección puede ser grave y extenderse a zonas próximas.

La *candidiasis mucocutánea crónica* está producida por *C. albicans* y afecta las superficies epiteliales del organismo: piel, mucosa oral, vías respiratorias superiores, tubo gastrointestinal y tractos urinario y genital. El grado de afectación varía con los pacientes y no se produce invasión del torrente circulatorio y tejidos profundos. La enfermedad se inicia a una edad temprana y a menudo persiste durante toda la vida.

C. albicans parece que penetra en la membrana plasmática de las células epiteliales y causa alteración de estas células; las lesiones ocasionadas son verrugosas.

Entre los factores favorecedores se consideran de gran importancia los defectos de la inmunidad mediada por células y parecen ser varios los déficit que se producen, independientemente o asociados.

1. Anergia en las pruebas cutáneas retardadas, y carencia de respuesta *in vitro* de los linfocitos a los antígenos.
2. Falta de respuesta a mitógenos.
3. Fallo en la producción de linfoquinas.

Además, se ha señalado que favorecen la aparición de candidiasis mucocutánea crónica diferentes endocrinopatías, como hipoparatiroidismo, hipoadrenocorticismo o tumores del timo. También se ha relacionado este tipo de candidiasis con hipovitaminosis A y predisposición genética.

Candidiasis sistémicas

Son formas raras en personas con los mecanismos de defensas íntegras, pero son las micosis más frecuentes en pacientes con enfermedades debilitantes subyacentes o bien cuando por algún mecanismo se introducen las levaduras directamente al torrente circulatorio o a los tejidos. En el primer caso, las levaduras llegan a la sangre desde un foco primario, que puede ser intestinal, pulmonar, etc., donde se multiplican. Por otra parte, las situaciones en que las levaduras alcanzan directamente el medio interno son en el momento actual numerosas y entre ellas pueden citarse las intervenciones quirúrgicas de larga duración, drogadicción, etc. En ambos casos suelen asociarse, además, otros factores favorecedores, ya señalados en la tabla 72-1, como uso de antibióticos, corticoides, etc.

La mortalidad de las candidiasis generalizadas es elevada, y su gravedad está en función de una serie de factores relacionados con los microorganismos y el huésped, entre los que es preciso destacar:

1. Cantidad de levaduras que alcanzan el medio interno.
2. Virulencia del hongo.
3. Estado de los mecanismos defensivos del huésped.

Las candidiasis generalizadas pueden presentarse bajo múltiples formas clínicas específicas, según la localización que alcancen: sangre, endocardio, riñón y sistema nervioso central, entre las más frecuentes.

Cuando las levaduras alcanzan el torrente circulatorio, en individuos con las defensas íntegras, a través de catéteres o

experimentalmente por ingestión de gran número de microorganismos que colonizan el intestino y pasan a la sangre, son rápidamente eliminadas por los mecanismos defensivos. Este paso transitorio de las levaduras por la sangre se denomina fungemia. En estos casos, la eliminación o retirada del catéter hacen desaparecer la fungemia. Por el contrario, en pacientes en que concurren habitualmente varios de los factores favorecedores ya señalados (tabla 72-1), cuando las levaduras llegan a la sangre, van a producir una fungemia en que aparecen los mismos síntomas de las septicemias bacterianas, fiebre, dolores, alteración de la función renal, etc. Las fungemias son con frecuencia la forma terminal de enfermedades subyacentes malignas.

Las especies de *Candida* que producen fungemias son, en primer lugar, *C. albicans* y, con menor frecuencia, *C. tropicalis*.

Los factores locales que favorecen la colonización del endocardio por *Candida* spp. son las alteraciones en las válvulas, implantación de prótesis valvulares o, en drogadictos, contaminación de agujas o de heroína.

Los síntomas de las endocarditis por *Candida* son similares a las que aparecen en endocarditis bacterianas. No obstante, en las producidas por *Candida* spp. se observan grandes vegetaciones en las válvulas y se produce embolización en grandes arterias, lo que no ocurre en las bacterianas.

Las especies de *Candida* que producen endocarditis con mayor frecuencia son *C. parapsilosis, C, guilliermondi, C. tropicalis* y *C. stellatoidea*.

El riñón y vías urinarias también son colonizados por *Candida* spp., cuando esta levadura llega al medio interno. Entre los factores que favorecen esta situación, hay que señalar la diabetes, embarazo, catéteres contaminados, uso de antibióticos y obstrucción de las vías urinarias.

Esta forma clínica es más frecuente en las mujeres que en los hombres.

A partir de los años 70 se ha detectado en heroinómanos *C. albicans* originando endoftalmitis. Esta afección cursa con disminución progresiva de la agudeza visual, dolor ocular, fotofobia, sensación de cuerpo extraño, escotomas y moscas volantes. En fondo de ojo, el oftalmólogo observa imágenes algodonosas en coriometría, que pueden ser uni o bilaterales y se acompañan de turbidez y opacidad del vítreo.

Otra localización más rara de candidiasis sistémicas es el sistema nervioso central. Pueden formarse grandes abscesos solitarios o microabscesos diseminados. Esto sucede en pacientes debilitados y en los que concurren factores favorecedores de las micosis. El curso clínico de la enfermedad, aunque puede ser agudo y fulminante, es de evolución larvada. Los signos clínicos corresponden a una meningitis, junto con signos neurológicos locales. Las especies que producen esta enfermedad son *C. albicans, C. guilliermondi* y *C. tropicalis*, entre otras.

Candida spp. intervienen, por último, en la producción de fenómenos de hipersensibilidad por sus metabolitos extracelulares, en diferentes localizaciones del organismo: piel, mucosas, aparato respiratorio y tubo digestivo.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico directo se realiza a partir de las muestras obtenidas de piel y mucosas, así como esputo, exudado vaginal, orina, sangre y líquido cefalorraquídeo. De estos productos patológicos se efectúa una primera observación para visualizar levaduras o pseudomicelios de *Candida* spp.

Posteriormente, los productos patológicos se siembran en medio de Sabouraud, al que se incorporan antibióticos para inhibir el crecimiento de la flora bacteriana acompañante. Las colonias de *Candida* spp. se desarrollan en 24 ó 48 horas y tienen un aspecto característico que permite diferenciarlas de las producidas por bacterias, pero no es posible, por su aspecto macroscópico solamente, distinguir unas especies de otras.

CARACTERISTICAS DE LAS COLONIAS

Las colonias de color crema, opacas y elevadas miden 1-3 mm de diámetro (fig. 72-1).

El aislamiento de *Candida* sp. de un producto habitualmente estéril, sangre y LCR, es un hallazgo importante especialmente si se correlaciona con la historia clínica del paciente, pero será más difícil de valorar la visualización de levaduras en esputo, exudado vaginal o en piel, ya que en estas zonas aparecen habitualmente. Por tanto, habrá que considerar una serie de hechos en relación con la situación clínica del paciente, así como si en la extensión directa se observan levaduras o pseudomicelio, el número de colonias aisladas en el medio de Sabouraud, etc.

En orina, recogida directamente, un recuento de 10^4 a 10^5 microorganismos por mililitro es un valor significativo para diagnosticar una infección urinaria por *Candida* spp.

La identificación de las levaduras aisladas en el medio de Sabouraud se realiza por el estudio de sus características morfológicas y fisiológicas (tablas 72-3 y 72-4).

Ya se ha señalado las características macroscópicas de las colonias de *Candida* spp. La observación al microscopio de la extensión directa, realizada a partir de una colonia, muestra formas ovales o esféricas de 3 a 6 μm de longitud y en las que se detectan pequeños brotes (blastosporas).

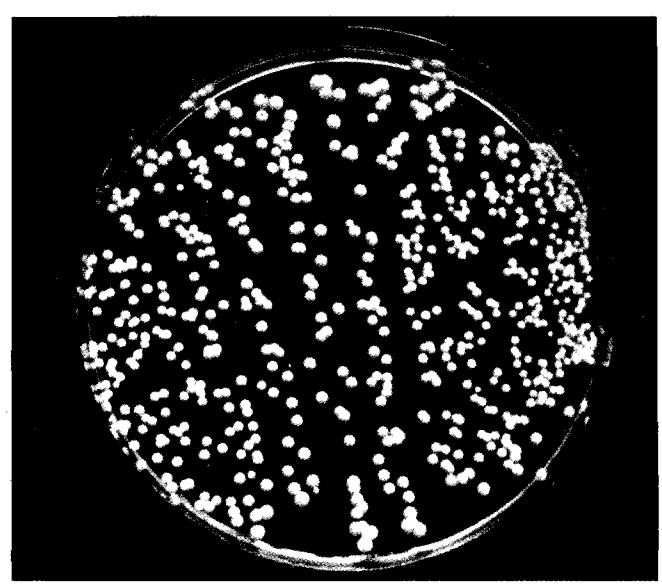


Fig. 72-1. Colonias de *Candida* spp. sobre Sabouraud-maltosa + - gentamicina.

Tabla 72-3. Características morfológicas de especies de Candida, Cryptococcus neoformans y Torulopsis glabrata

	Crecimiento a 37 °C	Pseudo/verdadero micelio	Clamidosporos	Filamentación	Cápsula
C. albicans	+	+	+	+	–
C. stellatoidea	+	+	+	+*	–
C. tropicalis	+	+	–	–	–
C. pseudotropicalis	+	+	–	–	–
C. guilliermondi	–*	+	–	–	–
C. krusei	+	+	–	–	–
C. parapsilosis	+	+	–	–	–
C. zeylanoides	–	+	–	–	–
Cryptococcus neoformans	+	–*	–	–	+
Torulopsis glabrata	+	–	–	–	–

*Variación de cepas.

Tabla 72-4. Características fisiológicas de especies de Candida, Cryptococcus neoformans y Torulopsis glabrata

	Fermentación										Utilización									
	Glu	Gal	Mal	Sac	Lac	Raf	Tre	Mel	O	Ino	Glu	Gal	Mal	Sac	Lac	Raf	Tre	Mel	Cel	Act
C. albicans	+	(+)	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–	+	–	–	R
C. stellatoidea	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	(+)	–	–	R
C. tropicalis	+	+	+	+	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	–	–	+	–	(+)	S
C. pseudotropicalis	+	+	–	+	+	+	–	–	–	–	+	+	–	+	+	+	–	–	(+)	R
C. guilliermondi	+	+	(+)	+	–	+	–	(+)	–	–	+	+	+	+	–	+	+	+	+	R
C. krusei	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	S
C. parapsilosis (C. parakrusei)	+	(+)	(+)	(+)	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–	+	–	–	S
C. zeylanoides	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	R
Cryptococcus neoformans	(+)	–	(+)	(+)	–	–	(+)	–	–	+	+	+	+	+	–	(+)	+	–	+	S
Torulopsis glabrata	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	–	S

R, resistencia a la actidiona; S, sensible a la actidiona; (+), débil; Glu, glucosa; Gal, galactosa; Mal, maltosa; Sac, sacarosas; Lac, lactosa; Raf, rafinosa; Tre, trehalosa; Mel, melizitosa; O, ornitina; Ino, Inositol; Cel, celobiosa; Act. actidiona.

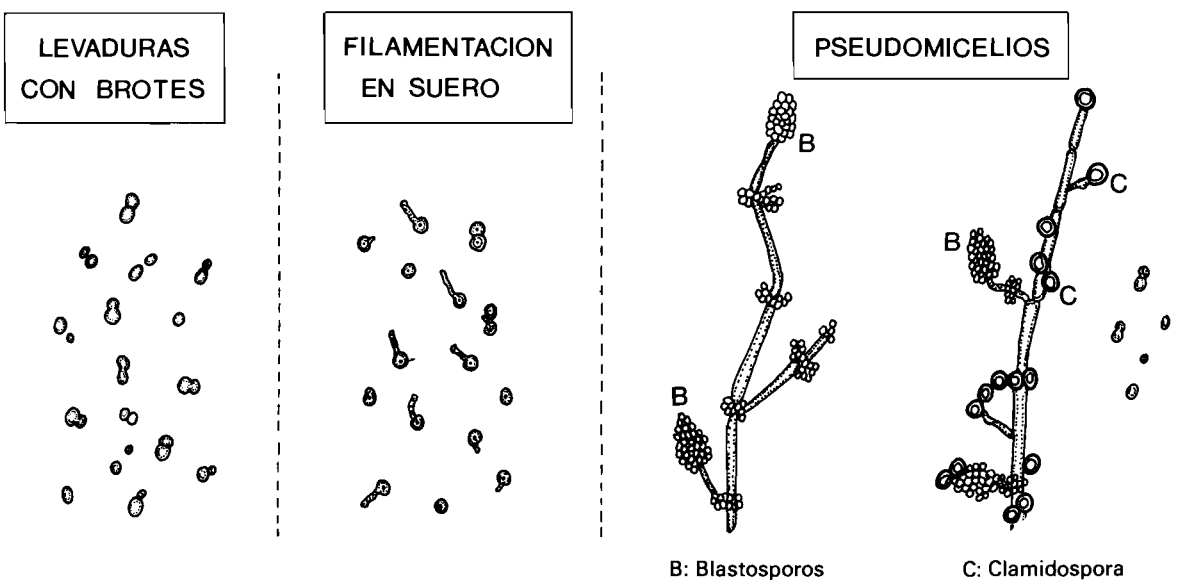


Fig. 72-2. Morfología microscópica de levaduras del género *Candida*. Prueba de filamentación en suero (esquema). Pseudomicelio con clamidosporo correspondiente a *C. albicans*.

Para la identificación rápida de *C. albicans* se utiliza la filamentación en suero a 37 °C (fig. 72-2).

La pauta seguida para el diagnóstico de especie es la siguiente:

1. Filamentación en suero a 37 °C; es una técnica rápida que se utiliza para el diagnóstico de *C. albicans*.

2. Siembra sobre el medio específico Corn Meal Agar, en el que *C. albicans* produce clamidosporas y todas las demás especies de *Candida* elaboran verdadero pseudomicelio. Esta última característica es útil para distinguir el género *Candida* de otros géneros fúngicos.

3. Estudios fisiológicos que se concretan en estudios de fermentación y utilización de azúcares.

Además, pueden ser útiles en el diagnóstico de especie otras peculiaridades de estos hongos, como su capacidad de desarrollo a 37 °C, sensibilidad a la actidiona, etc.

DIAGNOSTICO INDIRECTO

En las candidiasis sistémicas es útil la detección de anticuerpos frente a *Candida*, cuando el diagnóstico directo resulta negativo o al menos incierto. Las técnicas que se utilizan son principalmente aquellas que detectan precipitinas, en concreto doble difusión y contrainmunoelectroforesis. También se emplea la técnica ELISA.

Los resultados positivos deben valorarse en relación con la situación clínica del paciente.

En el momento actual se intenta el diagnóstico de candidiasis sistémica en pacientes inmunodeprimidos, por la detección de antígenos circulantes (mananos) de *Candida* spp., por una técnica que resulte muy sensible como, por ejemplo, ELISA.

Género Torulopsis: Torulopsis glabrata

El género *Torulopsis* incluye 36 especies. De ellas, *Torulopsis glabrata* es la que produce prácticamente toda la patología recogida en la literatura.

T. glabrata se encuentra ampliamente difundida en la naturaleza, en los animales y en el hombre. En la especie humana, este hongo se localiza como saprofito en el tubo digestivo (boca, faringe, intestino), tracto urinario bajo, vagina y piel.

La puerta de entrada más frecuente es la vía urinaria, y desde la uretra y vejiga se producen infecciones del riñón por vía ascendente. También puede penetrar por vía digestiva, a través del estómago o intestino, con ocasión de intervenciones quirúrgicas. Menos importancia tiene la vía respiratoria, aunque ha sido apuntada por algunos autores.

Otro mecanismo de penetración importante y frecuente comprende los catéteres intravenosos y las jeringas utilizadas por drogadictos, que pueden introducir directamente las levaduras al torrente circulatorio.

T. glabrata es una levadura normalmente saprofita en el hombre, que puede invadir el torrente sanguíneo y causar diversas enfermedades cuando actúan múltiples factores predisponentes, analizados ya en la tabla 72-1. En ocasiones, aunque rara vez, esta levadura produce un shock séptico comparable al shock endotóxico por gramnegativos. Es posible, aunque no se ha podido comprobar, que posea una endotoxina específica capaz de originar ese cuadro.

Puede producir un amplio espectro de formas clínicas en los huéspedes comprometidos; las más frecuentes son fungemias e infecciones urinarias. Es importante distinguir entre fungemia y fungicemia (septicemia fúngica). La primera es un paso transitorio de las levaduras por la sangre, que desaparece, por ejemplo, al retirar un catéter. El paciente presenta un estado toxiinfeccioso. Por su parte, las fungicemias son infecciones raras que tienen un curso clínico fulminante y rápidamente fatal.

Para probar el papel patógeno de *T. glabrata*, es necesario sospechar su presencia y realizar un diagnóstico correcto. La toma de muestras es muy importante y no todas son válidas; por esto, dado que *T. glabrata* es un saprofito habitual en los aparatos gastrointestinal y urinario, las muestras de orina, heces y esputo no son muy útiles para el diagnóstico.

Para evitar en estos casos el diagnóstico erróneo de infección, deben utilizarse técnicas más seguras en la toma de muestras, punción transtraqueal, cateterización uretral, etc. Son numerosas las muestras que pueden emplearse según la localización de la infección, sangre, LCR, catéteres, líquidos pleurales, etc. Las muestras obtenidas pueden observarse directamente al microscopio en fresco o previa tinción para intentar visualizar las levaduras. Estas son ligeramente alargadas, con brotes, pero sin hifas, pseudohifas o cápsula. Su tamaño oscila entre 2-4 μm. Cuando se visualizan en productos habitualmente estériles, son una señal inequívoca de infección por este oportunista.

Torulopsis glabrata crece bien en medios ordinarios, agar Mueller-Hinton, agar-sangre, etc., pero habitualmente, si se sospecha que la infección es producida por levaduras, se realiza la siembra en medio de Sabouraud que contenga un antibiótico de amplio espectro (cloranfenicol, gentamicina). Se incuba el medio de cultivo a 37 °C durante 48 horas, y al cabo de este tiempo se observan las colonias de *T. glabrata*, que son pequeñas, elevadas, blancas, lisas y brillantes. Se diferencia de *Candida* spp. en su aspecto macroscópico, porque las colonias de *T. glabrata* son más pequeñas al microscopio, las levaduras son también más pequeñas y, además, no produce pseudomicelio. Para realizar la identificación de especie de esta levadura, será preciso realizar el estudio de sus propiedades fisiológicas.

En el diagnóstico serológico de torulopsis se han ensayado técnicas de aglutinación, inmunoprecipitación, inmunoelectroforesis, contrainmunoelectroforesis e inmunofluorescencia. Para algunos autores es preciso asociar al menos dos de estas técnicas.

Género Rhodotorula

Los géneros *Rhodotorula* y *Chromotorula* incluyen levaduras formadoras de pigmentos rojo y amarillo, respectivamente. Al microscopio, aparecen como células esferoidales u ovoides, en las que se observan brotes multilaterales, y formadoras de pseudomicelio. Se pueden aislar en esputo, orina, sangre, etc., en pacientes en estadios terminales de enfermedades debilitantes, como leucemia, carcinoma, etc.

Las levaduras alcanzan a los enfermos a través de catéteres, soluciones intravenosas, etc., y la eliminación de la fuente de infección, en ocasiones, basta para que el paciente mejore. No obstante, puede realizarse el tratamiento con anfotericina B.

Género Cryptococcus: Cryptococcus neoformans

Reconocido primero en el jugo de melocotón, como una levadura con cápsula capaz de producir lesiones en el animal experimental y que se denominó *Saccharomyces neoformans*, más tarde fue aislado de casos humanos, algunos mortales.

TAXONOMIA

En 1975, Kwon-Chung descubrió que *Cryptococcus neoformans* se reproduce sexualmente como un basidiomiceto. Así, los serotipos A y D de esta especie fúngica son formas imperfectas de *Filobasidiella neoformans* y los serotipos B y C lo son de *F. bacillispora*.

DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD

Son muy pocos los determinantes de patogenicidad que se conocen de *C. neoformans*, entre ellos, sin lugar a duda, el más importante es la cápsula. Estas levaduras se encuentran en el suelo en forma no capsulada y son tan pequeñas (2 μm de diámetro) que consiguen llegar tras su inhalación hasta los alveolos pulmonares. Posteriormente, en el tejido infectado se desarrolla la cápsula que produce una disminución de la respuesta inmunitaria en humanos, que se manifiesta *in vitro* por inhibición de la fagocitosis de las levaduras por neutrófilos, y reducción en la producción de anticuerpos frente al polisacárido capsular. Este, además, activa las vías clásica y alternativa del complemento, lo que puede comportar en algunas circunstancias (infecciones graves) un descenso importante de algunos componentes del complemento.

Otro factor que puede tener influencia en el poder patógeno de *C. neoformans* es que, a diferencia de otras especies saprofitas del género, esta levadura se desarrolla mejor a 30 °C que a 37 °C y a 39-41 °C (*in vitro* crecen mal o no crecen). Los conejos muestran una resistencia natural a *C. neoformans*, precisamente porque tienen una temperatura corporal de 39 °C.

RESISTENCIA FRENTE A C. NEOFORMANS

A pesar de la ubicuidad y frecuente exposición a este microorganismo, son raras las infecciones, por lo que se sospecha que la resistencia del organismo humano es muy elevada. Son varios los mecanismos de resistencia del huésped frente a la infección por *C. neoformans*, pero al que se ha prestado mayor atención es la fagocitosis. La presencia de *C. neoformans* capsulado o no estimula la producción de componentes del complemento con propiedades quimiotácticas. Las células del hongo no capsuladas pueden ser fagocitadas por los macrófagos alveolares, mononucleares circulantes y neutrófilos.

Se ha demostrado que las IgG de suero humano pueden fijarse a la superficie de levaduras sin cápsula de *C. neoformans* y facilitar así la fagocitosis. Cuando la levadura es capsulada, se produce también la fijación de las IgG, pero aquélla actúa sobre la fracción Fc de la Ig y neutraliza su efecto opsonizante (favorecedor de la fagocitosis).

Los macrófagos alveolares no pueden digerir las levaduras englobadas; los mononucleares circulantes y neutrófilos, por el contrario, sí lo hacen.

Existen otros mecanismos de defensa por parte del organismo; así, se ha observado que los mononucleares y neutrófilos en presencia de antisuero *C. neoformans* eliminan este microorganismo por un mecanismo no fagocitario. Puede ser ésta una forma de depuración efectiva frente a levaduras capsuladas, que resisten a la fagocitosis.

A pesar de la ineficacia en la fagocitosis de *C. neoformans* por macrófagos, señalada antes, se ha descubierto que la resistencia a *C. neoformans* en el animal experimental depende de los macrófagos activados por linfocitos sensibilizados.

También se ha atribuido un papel en la defensa frente a la infección por *C. neoformans* a los linfocitos T, ya que se han diagnosticado criptococosis diseminadas en pacientes que padecen déficit de estas células. No obstante, aunque esto ya se apuntaba en las candidiasis, en ocasiones es difícil precisar si un defecto celular es el que favorece la infección por un determinado hongo o, por el contrario, si esta micosis es la que origina la alteración celular.

FACTORES PREDISPONENTES

La criptococosis se produce en un porcentaje importante, en individuos en los que no se detectan factores predisponentes. Es más frecuente en hombres y personas de raza blanca que en mujeres y personas de raza negra; quizás esto puede estar relacionado con la mayor o menor exposición al hongo. No obstante, se ha señalado también la mayor incidencia de esta afección en el huésped comprometido, porque está recibiendo tratamientos que disminuyen sus defensas o padece enfermedades que favorecen la micosis. Entre los primeros tienen gran importancia los corticoides (se reconocen como el factor que desencadena la mayor parte de los casos); entre las últimas, es preciso señalar las enfermedades malignas en general y las linforreticulares en particular: enfermedad de Hodgkin; enfermedades del colágeno: lupus eritematoso, sarcoidosis; endocrinopatías, concretamente la diabetes. Otras situaciones en que aparece esta enfermedad comprenden a las personas que han recibido trasplantes renales y también determinadas circunstancias fisiológicas, como el embarazo.

CLINICA

La ubicuidad del agente causal *(C. neoformans)* en la naturaleza hace pensar que muchas personas entran en contacto con el hongo, a pesar de lo cual en la mayor parte de ellas no se manifiestan los síntomas de la enfermedad. Allí donde se han realizado estudios epidemiológicos por medio de pruebas cutáneas para conocer el número de personas de

una población que han tenido contacto con el hongo, se han encontrado porcentajes elevados de positividad.

Las manifestaciones clínicas de criptococosis van a depender más de la respuesta del huésped a la infección que de la cepa del hongo que la produce. En los pacientes normales, con sus defensas íntegras, la infección que sigue a la inhalación del hongo es rápidamente resuelta sin manifestaciones clínicas o con síntomas mínimos. Cuando se inhalan gran número de levaduras, puede producirse una infección pulmonar con posible diseminación a otras localizaciones, y en ocasiones la infección puede cronificarse y surgir ocasionalmente diseminaciones desde el foco inicial.

En pacientes comprometidos con las defensas disminuidas, es más fácil que la infección origine manifestaciones clínicas y alcance diferentes localizaciones del organismo, preferentemente el sistema nervioso central.

La localización primaria de *C. neoformans* es el pulmón, donde el hongo puede permanecer o diseminarse a otros órganos. La infección pulmonar primaria es similar a una afección gripal, que con frecuencia se resuelve espontáneamente. Puede cursar de forma asintomática o bien con manifestaciones varias, como tos, fiebre, dolor, malestar, pérdida de peso, expectoración escasa y mucoide, y más raramente hemoptisis. En los casos excepcionales, en que la afección es fulminante, existe consolidación pulmonar y fiebre elevada. La diseminación de *C. neoformans* se realiza principalmente al sistema nervioso central, localización en que con mayor frecuencia se efectúa el diagnóstico de la enfermedad.

La preferencia de *C. neoformans* por el tejido nervioso central se ha explicado porque, en esta localización, *a)* el hongo se encuentra a salvo de los mecanismos de defensa del organismo y *b)*, además, existen las sustancias nutritivas selectivas que aquél precisa para su desarrollo.

La afección puede ser aguda (en pacientes tratados con corticoides o en aquellos que presentan enfermedades linforreticulares malignas, que están sometidos a tratamiento) o más frecuentemente crónica, en que los síntomas persisten durante semanas o meses. El curso de la enfermedad, muy irregular, con períodos asintomáticos, puede dificultar su diagnóstico. La manifestación más frecuente es la cefalea frontal o temporal intermitente; además, pueden existir fiebre y los demás síntomas de meningitis (rigidez de nuca y desorientación, signos positivos de Kernig y Brudzinski). El líquido cefalorraquídeo es claro y se encuentra a presión, existen células (en especial mononucleares) y las proteínas se encuentran elevadas. Otras localizaciones que el hongo puede alcanzar son la cutánea, mucosa, ósea o visceral.

DIAGNOSTICO

Las muestras más empleadas en el diagnóstico de criptococosis son esputo, LCR y aspirado de lesiones cutáneas. En estos productos patológicos se realiza la observación directa añadiendo tinta china, para observar las características de las levaduras a las que envuelve una cápsula ancha. Además, si se siembra en medio de cultivo, *C. neoformans* crece bien a 37 °C y más lentamente a temperatura ambiente, en los medios habituales utilizados en el laboratorio de micología, como el medio de Sabouraud con glucosa o maltosa, al que se añaden antibióticos para inhibir el crecimiento de bacterias acompañantes. No deben sembrarse en medios que contengan cicloheximida (actidiona), al inhibir el crecimiento del hongo. Para aislarlo a partir de muestras muy contaminadas, como heces de paloma, se emplean medios selectivos específicos.

La colonia de *C. neoformans* en medio de Sabouraud es típica, mucosa de color pardo a crema. Por visión microscópica directa se observan levaduras con brotes, pero si se preparan suspendidas en tinta china, se pone de manifiesto la cápsula. Son características de la especie su capacidad de crecimiento a 37 °C, patogenicidad para el ratón, asimilación de inositol y producción de ureasa. No produce pseudomicelio en medios como el corn-meal-agar.

En las tablas 72-3 y 72-4 se observa la no fermentación de los azúcares habitualmente estudiados, a pesar de emplear glucosa, maltosa, sacarosa y galactosa.

Se puede realizar, además, un diagnóstico serológico directo, pues con él se detectan los antígenos del polisacárido capsular. En el curso de la infección activa, el polisacárido de la cápsula se disuelve en los líquidos corporales y, por su carácter de antígeno, puede detectarse con un antisuero de conejo específico frente a *C. neoformans*. Los anticuerpos específicos de conejo frente al polisacárido capsular se fijan sobre partículas. Para la detección de este antígeno circulante se utiliza la prueba de aglutinación al látex. Esta técnica es muy sensible y específica para el diagnóstico de criptococosis, por lo que resulta incluso más útil que las técnicas clásicas de diagnóstico directo señaladas antes (visión directa y cultivo).

La detección de anticuerpos en suero frente a *C. neoformans* no resulta útil en la fase activa de la enfermedad; sin embargo, estas pruebas, al permanecer positivas algún tiempo después de que el paciente se haya recuperado de la enfermedad, son de interés para su diagnóstico retrospectivo.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Las especies de *Candida* y *Torulopsis glabrata* son levaduras que se encuentran distribuidas por todo el mundo. La fuente de infección es preferentemente humana, pues las levaduras se encuentran en personas sanas en el tubo digestivo, tracto genital femenino, piel, etc. También existen en los animales y en el ambiente telúrico.

La mayor parte de las infecciones son endógenas, pero es posible también el mecanismo de transmisión interhumano por contacto directo, por ejemplo, candidiasis del recién nacido, que adquiere al atravesar el canal del parto cuando la madre padece una candidiasis vaginal.

La población susceptible de candidiasis está constituida por aquellos pacientes en los que inciden los factores predisponentes, a los que ya nos hemos referido antes.

En pacientes susceptibles de padecer una infección sistémica por candidas o torulopsis de origen endógeno, disminuirá el riesgo, según algunos autores, con antifúngicos, como nistatina o anfotericina B. Hay que cuidar también la asepsia cutánea.

La forma idónea de prevenir las infecciones por *Candida* sp. es actuar sobre los factores favorecedores.

Los catéteres fijos constituyen la puerta de entrada de *T. glabrata* en el torrente sanguíneo, por eso hay que insertarlos con todas las precauciones de asepsia, cambiarlos frecuentemente y efectuar cultivos de sus puntas para ver si existen levaduras.

En pacientes de los servicios de reanimación y cirugía, es necesario rastrear el menor foco con capacidad para originar fungemia y realizar cultivos de flujo vaginal, orina, etc. Con estas medidas se pretende disminuir o frenar el número de infecciones por levaduras en pacientes de riesgo.

Criptococcus neoformans es un hongo saprofito, de distribución cosmopolita. Se aísla en suelos y otros lugares contaminados con excrementos de paloma desecados. No es un hongo que forme parte de la flora habitual del aparato respiratorio del hombre y animales. Penetra en el organismo humano al inhalar aerosoles que se forman a partir del suelo contaminado.

No se han citado casos de transmisión de *C. neoformans* entre humanos o de animales al hombre.

La población susceptible está constituida en porciones similares por pacientes que no padecen enfermedades subyacentes y por otros que sufren leucemia, linfoma, enfermedad de Hodgkin, etc., lo que facilita la aparición de esta micosis.

No existen medidas específicas para llevar a cabo una profilaxis eficaz, y únicamente la actuación para combatir los factores predisponentes resultaría de alguna utilidad en la prevención de criptococosis.

TRATAMIENTO

Los antifúngicos que se emplean en el tratamiento de las candidiasis superficiales son nistatina y, más recientemente, clotrimazol y miconazol.

En las candidiasis sistémicas son útiles la anfotericina B y 5-fluorocitosina. No obstante, frente a este último fármaco se han demostrado resistencias del serotipo A de *C. albicans*.

La anfotericina B tiene el gran problema de su toxicidad renal, hepática, medular, etc. La 5-fluorocitosina, al ser menos tóxica, se tolera mejor por los pacientes.

Un nuevo antifúngico imidazólico, el ketoconazol, resulta menos efectivo frente a *C. albicans* que a las otras especies de *Candida*.

En el tratamiento de torulopsis es eficaz la anfotericina B, a pesar de que en ocasiones no tenga efecto beneficioso alguno sobre el paciente, no porque la levadura sea resistente, sino a causa del deteriorado estado del enfermo que impide que el antifúngico actúe.

La sensibilidad de *T. glabrata* a 5-fluorocitosina varía mucho de unas cepas a otras y en algunas se han observado resistencias. Entre los imidazólicos se emplean el miconazol, el clotrimazol y tioconazol. El ketoconazol no es efectivo frente a esta levadura.

Anfotericina B y 5-fluorocitosina se asocian tanto en el tratamiento de candidiasis como en el de torulopsis.

En el tratamiento de ambas micosis (candidiasis y torulopsis), a veces son necesarias medidas médicas o quirúrgicas para lograr la curación del paciente.

Las meningitis por *C. neoformans* se tratan con una asociación de anfotericina B por vía intravenosa y 5-fluorocitosina por vía oral. También se pueden utilizar ambos fármacos por separado, pero la 5-fluorocitosina da lugar a la aparición de resistencias durante el tratamiento.

La mayor parte de las criptococosis pulmonares se resuelven sin tratamiento; no obstante, es preciso vigilar el curso de la enfermedad durante 2 ó 3 meses, realizar cultivos de LCR y orina, y conocer y evitar la posible incidencia de factores predisponentes.

La criptococosis de otras localizaciones diferentes del pulmón y sistema nervioso central (piel, hueso, etc.) se trata con la asociación de anfotericina y 5-fluorocitosina. Las lesiones cutáneas en ocasiones curan sin ningún tratamiento.

Género Aspergillus

El descubrimiento y primera descripción de este hongo fueron realizados por Micheli, en 1729, quien por la semejanza morfológica de los conidióforos (estructura, característica del género) con hisopos (en latín, *aspergillus*) le denominó *Aspergillus*.

TAXONOMIA

Las especies del género *Aspergillus* tienen en común la forma de reproducción asexuada, de ahí su denominación. En la actualidad, se establece una doble clasificación de estos hongos según se haya descubierto o no su forma de reproducción sexual. En la subdivisión *Ascomycotina*, orden *Eurotiales*, se incluyen los géneros *Eurotium*, *Emericella* y *Sartorya*, que corresponden a las especies *A. glaucus*, *A. nidulans* y *A. fumigatus*, respectivamente, en las que se ha descubierto la forma de reproducción sexual; el resto de las especies se clasifican en la subdivisión *Deuteromycotina*, clase *Hyphomycetes*.

Se reconoce la existencia de 18 grupos entre los que destacan por su frecuencia en patología médica: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus* y *A. clavatus*.

Se trata de hongos muy abundantes en la naturaleza, los cuales se aíslan a partir de diferentes vegetales (p. ej., granos de cereales almacenados) en el suelo, en el aire y en materia orgánica en descomposición. A pesar de su ubicuidad, no producen habitualmente cuadros clínicos en el hombre sano. Los macrófagos alveolares constituyen un mecanismo de defensa importante frente a los esporos del hongo que alcanzan los alveolos.

Mononucleares y neutrófilos pueden fagocitar las esporas, aún sin germinar, de *Aspergillus* spp., pero algunos autores señalan que, al no ser capaces de destruirlas, esas células contribuirán a diseminar el hongo.

Recientemente se ha descrito en los neutrófilos un mecanismo no fagocítico, que puede ser fundamental para la eliminación de las hifas del hongo, demasiado largas para ser fagocitadas. Los neutrófilos se fijan y extienden sobre las hifas de *A. fumigatus* y a continuación se producen cambios morfológicos y alteración del metabolismo de la hifa.

ACCION PATOGENA

La puerta de entrada habitual de *Aspergillus* spp. es la respiratoria, ya que sus conidios se diseminan con gran fa-

Tabla 72-5. Clasificación de las aspergilosis pulmonares

Formas localizadas
Aspergiloma intracavitario
Formas alérgicas
En pacientes atópicos
Asma
Aspergilosis broncopulmonar alérgica
En pacientes no atópicos
Alveolitis alérgica extrínseca
Formas invasivas
Aspergilosis invasiva
Aspergilosis diseminada

cilidad por el aire. También puede localizarse en la córnea, oído, senos, sistema nervioso, piel, etc.

En el inicio de una aspergilosis tienen una importancia de primer orden los factores favorecedores que existen en el huésped y la intensidad y frecuencia de la exposición al hongo.

El pulmón es, por tanto, el órgano en el que más frecuentemente asienta el *Aspergillus*, y, según la interacción que exista entre huésped y hongo, pueden producirse diversas formas clínicas (tabla 72-5).

De todas ellas, en el momento actual, las más frecuentes son las formas localizadas (aspergilomas); entre las alérgicas, la aspergilosis broncopulmonar alérgica, y las formas invasivas en general.

Aspergiloma intracavitario

Se trata de un proceso localizado, con proliferación del hongo en cavidades generalmente preformadas. La existencia de aspergilomas primitivos se puede considerar una eventualidad más bien rara.

Constituye sin ninguna duda la forma más frecuente de aspergilosis pulmonar, que aparece aproximadamente en el 17 % de los pacientes con tuberculosis curadas.

Incide también en pacientes que padecen procesos, generalmente a nivel pulmonar, en los que quedan como secuelas cavidades residuales (quistes congénitos, hidatidosis, abscesos, bullas de enfisema). En todos ellos, las defensas locales a este nivel están disminuidas y se dan las condiciones ideales para que el hongo germine (humedad, temperatura, nutrición, etc.) y se forme un entramado de hifas, que constituye la denominada «bola de hongos».

Los aspergilomas pulmonares se sitúan preferentemente en el lóbulo superior a nivel de los vértices pulmonares y pueden encontrarse tanto en el derecho como en el izquierdo, pero se hallan con mayor frecuencia en el primero.

Aunque hay pacientes que persisten asintomáticos, en otros pueden aparecer una serie de manifestaciones, como alteración del estado general, astenia, fatiga, tos persistente, expectoración mucoide y mucopurulenta, fiebre, velocidad de sedimentación acelerada, etc. No obstante, el síntoma más frecuente en los aspergilomas son las hemoptisis, que aparecen en el 60 % de los pacientes y causan la muerte en el 5 % de ellos.

Radiológicamente, el aspergiloma aparece con una opacidad uniforme, poco densa, más o menos redondeada y cubierta en las porciones superior y laterales por una zona aérea en semiluna (signo de Monod), imagen que, si bien es característica, no es patognomónica de aspergiloma.

Aspergilosis broncopulmonar alérgica

La aspergilosis broncopulmonar alérgica se produce por la presencia del hongo en las secreciones pulmonares.

Factores favorecedores

Existen dos factores sin duda fundamentales en la aparición de este cuadro clínico: por una parte, el estado atópico del paciente y, por otra, la mayor o menor exposición a las esporas de diferentes especies de *Aspergillus*, preferentemente *A. fumigatus*.

Otros factores que hay que considerar son la alteración previa de la mucosa de revestimiento y el incremento de la viscosidad de las secreciones pulmonares. El factor climatológico parece desempeñar un papel en esta afección, ya que se presenta con mayor frecuencia en otoño e invierno, preferentemente durante los meses de octubre a marzo.

Su patogenia está íntimamente relacionada con la aparición de hipersensibilidad inmediata tipo I e hipersensibilidad retardada tipo III. Sus manifestaciones clínicas más importantes son fiebre intermitente, tos, infiltrados pulmonares fluctuantes y eosinofilia en sangre y esputo.

Alveolitis alérgica extrínseca o neumonitis por hipersensibilidad

La inhalación de diversas sustancias sensibilizantes que contienen el hongo *A. clavatus* y *A. fumigatus* (p. ej., heno contaminado) por sujetos no atópicos da lugar a la aparición de un fenómeno de hipersensibilidad del tipo III del Gell y Coombs, que, según parece, se asocia con hipersensibilidad del tipo IV mediada por células y afecta las porciones distales del pulmón. Cuatro a 8 horas después del contacto con el antígeno sensibilizante, aparece tos seca, disnea de esfuerzo y fiebre, junto con alteraciones de tipo funcional.

Radiológicamente, se observa un sombreado micronodular difuso en ambos campos pulmonares.

Aspergilosis invasiva y diseminada

Se caracteriza por la penetración y crecimiento del hongo en tejidos viables y se localiza preferentemente en las vías respiratorias.

En el caso de que *Aspergillus* colonice dos o más órganos viscerales, no contiguos, esta forma se denomina aspergilosis diseminada.

Si bien hay referencias de algunos autores sobre aspergilosis invasivas sin factores favorecedores en personas aparentemente sanas, lo más frecuente es que existan unas causas desencadenantes bien definidas. Se han descrito infinidad de factores que favorecen la aparición de estas formas más graves de aspergilosis, pero entre los más importantes y frecuentes se encuentran las afecciones hematológicas y los tratamientos empleados para combatirlas.

Tabla 72-6. Diagnóstico biológico

Directo
Visión en fresco
Tinciones: azul de toluidina, Gram, hematoxilina-eosina, etc.
Cultivos: Sabouraud-glucosa-agar + gentamicina, Czapek-Dox-agar
Indirecto o inmunológico
Pruebas serológicas
Doble difusión (DD)
Inmunoelectroforesis (IEF)
Contrainmunoelectroforesis (CEF)
Hemaglutinación (HAG)
Inmunofluorescencia indirecta (IFI)
ELISA
Pruebas de hipersensibilidad
Pruebas cutáneas
Pruebas de inhalación

Las formas clínicas encontradas con mayor frecuencia en aspergilosis pulmonares invasivas son la bronconeumonía necrotizante y el infarto pulmonar hemorrágico.

DIAGNOSTICO

El diagnóstico biológico de las diversas formas clínicas producidas por *Aspergillus* sp. se basa en la actualidad en la búsqueda del hongo en diferentes productos patológicos, la detección de anticuerpos circulantes o la respuesta precoz o tardía a las pruebas cutáneas o de inhalación (tabla 72-6).

La visión directa, la tinción y el cultivo de los productos patológicos son técnicas sencillas que aún resultan útiles en el momento actual para el diagnóstico de todas las formas de aspergilosis. Sin embargo, no puede concederse a estos métodos un valor absoluto. Correctamente interpretados, en algunos casos orientarán y, en otros, confirmarán el diagnóstico.

En estas pruebas se utilizan las siguientes muestras: producto de expectoración, aspirado bronquial (obtenido por punción transtraqueal o broncoscopia), punción transparietal y aspiración directa del aspergiloma o de líquido pleural y estudio de piezas pulmonares de exéresis o necropsia.

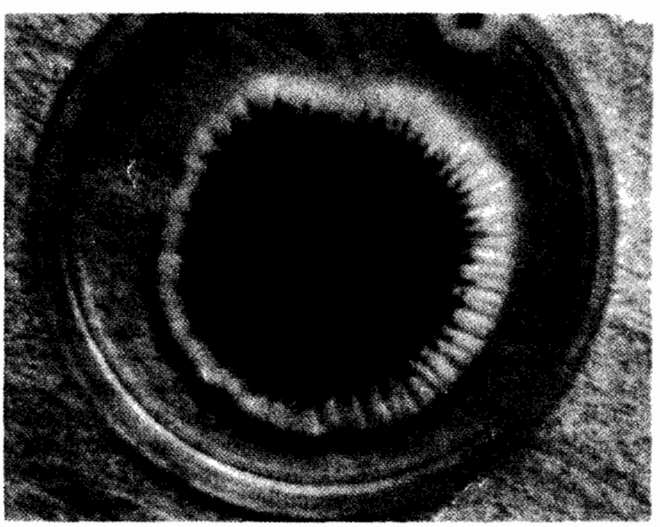


Fig. 72-3. Colonia de *Aspergillus niger* sobre Sabouraud-maltosa- + gentamicina.

A partir de estos productos patológicos se realiza una extensión entre porta y cubre, que se observa posteriormente sin otros preparativos o aclarada con hidróxido de potasio al 10-20 %. En la observación microscópica de esta preparación con objetivos 10× y 40×, se aprecian filamentos de un diámetro de 3-4 µm, ramificados y tabicados, que son las características hifas de *Aspergillus fumigatus*. Más raramente, sobre todo en aspergilomas, pueden visualizarse los conidióforos del hongo.

Métodos de tinción, como los de Gram, hematoxilina-eosina, Gomori-Crocott, etc., se emplean para la visualización del hongo en los diferentes productos.

Los productos patológicos pueden ser cultivados en medios especiales para hongos, como el medio de Sabouraud-maltosa-agar con adición de antibióticos (en general gentamicina), para evitar la contaminación bacteriana (fig. 72-3). Un medio especifico para el aislamiento e identificación de las especies de *Aspergillus* es el de Czapek-Dox.

Estos medios son incubados a 37 °C y a las 24-48 horas se aprecia el desarrollo de los micelios vegetativo y reproductor. Las características de las diferentes especies se exponen en la tabla 72-7.

Las especies de *Aspergillus* se caracterizan en los cultivos por sus aparatos conidiales, que representan el mecanismo de reproducción asexual del hongo. Constan de una célula basal o «célula pie», sobre la que se eleva perpendicularmente el conidióforo, que en su porción terminal se ensancha en una vesícula, sobre la que se sitúan en una o dos hileras unas formaciones alargadas a modo de botellas, que se denominan esterigmas, en las que se producen las conidias de *Aspergillus*. El conjunto de las conidias de un aparato conidial origina las cabezas conidiales, de interés en la diferenciación de especies (fig. 72-4).

Respecto a las técnicas clásicas de diagnóstico directo, conviene puntualizar que en las formas localizadas pueden surgir resultados falsos negativos, debido a que la cavidad sobre la que asienta el aspergiloma no está comunicada con el exterior, ya que no existe bronquio de drenaje.

Los falsos positivos son más frecuentes que los falsos negativos, puesto que por la ubicuidad del hongo es muy fácil que los medios de cultivo se contaminen directamente por las especies de *Aspergillus*, que existen en la atmósfera. Además, *Aspergillus* sp. puede hallarse como saprofito en la cavidad bucal y vías respiratorias, y en este caso se observarán las esporas del hongo en la extensión directa y crecerán colonias de éste en los cultivos.

Por todo ello, la interpretación de estas pruebas directas exige una gran cautela, de ahí que diversos autores hayan establecido criterios tendentes a evitar los errores citados. Para considerar un diagnóstico positivo, es preciso que se aíslen varias colonias de *Aspergillus* sp., en una sola muestra, o que crezca la misma especie de *Aspergillus* a partir de varias muestras diferentes.

Otros autores opinan que la observación previa de hifas en la extensión o en cortes de tejido de exéresis es de gran importancia para considerar posteriormente positivo el cultivo de estas mismas muestras.

La visualización y aislamiento de *Aspergillus* sp. en los productos que proceden de aspiración transtraqueal o transparietal tiene mucho más valor que cuando se realizan a partir de expectoraciones.

Tabla 72-7. Caracteres morfológicos de las principales especies de Aspergillus

Características	*A. fumigatus*	*A. flavus*	*A. nidulans*	*A. niger*	*A. terreus*
Crecimiento	Rápido; termofílico (37-50 °C)	Temperatura ambiente. Rápido (7 cm diámetro) o más lento (4 cm en 10 días)	A temperatura ambiente 5 cm diámetro en 15 días	A temperatura ambiente lento, 3 cm en 10 días	A temperatura ambiente rápido 5 cm diámetro en 10 días
Colonias anverso	Primero blanco, luego con el desarrollo cabezas conidiales verdes	Verde amarillento a verde oscuro con la edad	A veces verdes oscuro, otras crema o amarillo	Primero blanco o ligeramente amarillo, luego negro por cabezas conidiales	Color ante, canela, avellana suave o pardo
Cabezas conidiales	En columna	Globosas a radiadas o en columna	En columnas cortas	Globosas radiadas o divididas en columnas grandes	En columnas compactas
Vesículas	Forma redonda, sólo fértiles en la mitad superior	Estirpes con cabeza grande, forma globosa; estirpe cabeza pequeña en clava o redoma. Fértil en mayor parte de su superficie	Hemisféricas	Globosas o casi globosas	Hemisféricas
Esterigmas	Una serie	Una o dos series, a veces ambas en una misma estirpe, o en una misma vesícula	Dos series aproximadamente de la misma longitud	Una o dos series	Biseriados
Conidióforos	Pared lisa	Rugosos	Lisos, a veces presentan concreciones superficiales	Lisos, en pocas estirpes; ligeramente granulosos o punteados	Lisos
Conidias	Globosa, subglobosa o elíptica, equinuladas o ligeramente rugosas	Globosa o subglobosa; cuando madura es rugosa	Globosa, equinuladas o rugosas	Globosa, subglobosa, elíptica o aplanada; lisas, equinuladas o con estriaciones	Globosa a ovalada; células de pared gruesa

El estudio de los procesos inmunológicos que acaecen en las aspergilosis pulmonares, complejo en algunos casos, resulta esclarecedor tanto para el conocimiento de la patogenia como para el diagnóstico de esos cuadros.

Es un hecho comprobado que el asentamiento de *Aspergillus* sp. en el pulmón constituye un estímulo antigénico, que da lugar a la producción de diferentes clases de anticuerpos, que en las micosis no tienen un carácter protector frente al hongo, pero resultan muy útiles para detectar la afección. Entre las técnicas empleadas en el diagnóstico de estas micosis se encuentran la doble difusión (DD), inmunoelectroforesis (IEF), hemaglutinación (HAG) y ELISA.

En ocasiones, los anticuerpos producidos originarán fenómenos de hipersensibilidad tipo I, tipo III o ambos asociados, que se reconocen según la respuesta al antígeno inhalado o inoculado por vía cutánea.

EPIDEMIOLOGIA Y PROFILAXIS

Aspergillus sp. es un hongo muy abundante en la naturaleza y de distribución cosmopolita. Crece y se multiplica de forma copiosa en la tierra, sobre materia orgánica en descomposición y sobre granos de cereales, y se diseminan sus conidios desde estos sustratos por el aire.

A. fumigatus es la especie que habitualmente produce cuadros clínicos en el hombre, es termofílica y puede crecer a temperaturas elevadas de 40-45 °C. Otras especies se han aislado también de cuadros clínicos en el hombre: *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. clavatus*, etc. Estos hongos, que con frecuencia son inhalados por el hombre, no producen enfermedad más que cuando se encuentran en presencia de factores predisponentes que inhiben o neutralizan las defensas normales del organismo. Estos factores en ocasiones son locales, como ocurre en algunas de las formas pulmonares, aspergiloma y aspergilosis broncopulmonar alérgica, o bien generales, que facilitan la diseminación del hongo por el organismo.

Algunas de las formas alérgicas se han relacionado estrechamente con determinadas profesiones, en las que se produce una elevada exposición; así la alveolitis alérgica extrínseca aparece en personas que trabajan en la elaboración de la cerveza.

Dada la ubicuidad de *Aspergillus* spp., es muy difícil evitar la exposición a este hongo profilácticamente. Se ha conseguido esto en algunos hospitales, en los que se depura el aire por medio de filtros y utilizando habitaciones con flujo laminar para pacientes inmunodeprimidos.

Por último, se mantendrá vigilancia especial en los pacientes en que concurren uno o más factores favorecedores.

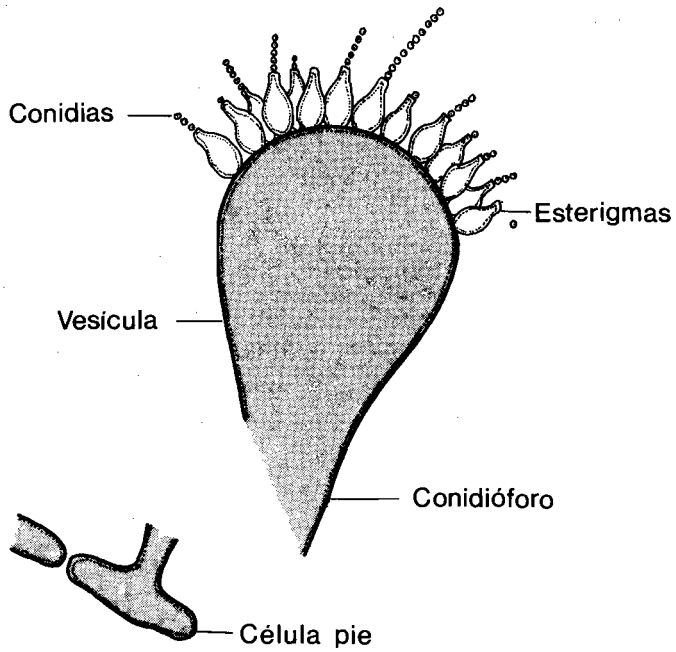


Fig. 72-4. Aparato conidial de *Aspergillus* spp.

TRATAMIENTO

El tratamiento quirúrgico (espeleotomía, segmentectomía, lobectomía) es el más adecuado en aspergilomas pulmonares, siempre que lo permitan las condiciones del paciente. Diversos autores han destacado las importantes hemorragias que aparecen en este tipo de cirugía.

En los casos invasivos localizados (renal, cerebral, etc.) se realiza también el tratamiento quirúrgico.

En las formas alérgicas, el tratamiento se realiza con corticoides. La prednisona produce una mejoría en el paciente y aclara las imágenes radiográficas. Existe otro agente antialérgico, el cromoglicolato disódico, que tiene la ventaja de no presentar los efectos secundarios de los corticoides.

Algunos autores asocian al tratamiento de estas formas antifúngicos en aerosol: anfotericina B, nistatina o pimaricina, cuya misión es limpiar de hongos la pared bronquial.

La aspergilosis invasiva o diseminada es una enfermedad muy grave, que precisa un tratamiento intensivo, cuyo éxito dependerá en gran parte de la enfermedad subyacente y de la inmunocompetencia del paciente, y son muy pocos los que sobreviven.

El diagnóstico precoz asociado al tratamiento temprano puede ser importante para conseguir mejores resultados que los obtenidos hasta ahora. Se han estudiado diversos antifúngicos: anfotericina B, 5-fluorocitosina y ketoconazol *in vitro* e *in vivo*, frente a especies de *Aspergillus*, con resultados variables. La asociación de anfotericina B con 5-fluorocitosina tiene un efecto aditivo; se evita, además, la aparición de resistencias al último antifúngico y pueden emplearse dosis menores del primero, con lo que se reduce su temida toxicidad.

Recientemente se han asociado también el ketoconazol y la 5-fluorocitosina en el tratamiento de aspergilosis pulmonar.

Géneros Mucor, Rhizopus y Absidia

Estos hongos que pertenecen a la clase *Zygomicetes* producen cuadros clínicos (en pacientes inmunocomprometidos), cuya denominación más correcta es mucormicosis. Ampliamente distribuidos en la naturaleza (suelo, materia animal y vegetal en descomposición), sus esporas (esporangiosporas) se liberan al aire y son inhalados habitualmente por el hombre. Menos frecuentes son la inoculación directa o la ingestión del hongo. Factores determinantes en la aparición de enfermedad son las alteraciones en los mecanismos de resistencia del huésped. Las localizaciones más frecuentes y los factores favorecedores de estas micosis se relacionan en la tabla 72-8. Además, desde cualquiera de las localizaciones apuntadas se puede producir una diseminación en pacientes muy debilitados y/o con enfermedades malignas subyacentes.

Tabla 72-8. Localizaciones y factores favorecedores de las mucormicosis

Localizaciones	Factores favorecedores
Rinocerebral	Diabetes mellitus, acidosis
Pulmonar	Neoplasias hematológicas
Gastrointestinal	Malnutrición o enfermedad gastrointestinal primaria
Cutánea	Soluciones de continuidad en piel y enfermedades subyacentes
Diseminada	A partir de algunas de las otras localizaciones

El diagnóstico se lleva a cabo siguiendo las pautas ya señaladas anteriormente en las aspergilosis. El diagnóstico precoz facilitará el tratamiento adecuado. Entre los datos morfológicos que caracterizan a estos hongos destacan:

1. Las hifas carecen de tabiques.
2. Sus lados no son paralelos.
3. Son más anchas que las de otros hongos filamentosos.
4. En las lesiones invaden las paredes y la luz de los vasos sanguíneos.

Las mucormicosis, si no se tratan, originan la muerte del paciente en la mayor parte de los casos. El tratamiento irá dirigido, en primer lugar, al control de la enfermedad subyacente; cuando sea preciso, la eliminación de los tejidos necrosados, y, por último, la terapéutica antifúngica. En este último punto, el fármaco más útil es la anfotericina B, que en pacientes con grave deterioro debe administrarse precozmente a altas dosis y por vía intravenosa para que resulte eficaz.

BIBLIOGRAFIA

Conant, N. F.; Smith, D. T.; Baker, R. D., y Callaway, J. L.: Micología. Interamericana, México, 1972.

Drouhet, E.: Champignons opportunistes et mycoses iatrogènes. Bull. Inst. Pasteur, 70, 391-464, 1972.
Emmons, C. W.; Binford, C. H.; Ultz, J. P., y Kwon-Chung, K. J.: Medical Mycology. Lea and Febiger, Philadelphia, 1977.
García-Rodríguez, J. A., y Martín Sánchez, A. M.: Diagnóstico biológico de la aspergilosis pulmonar. Laboratorio, 74/440, 91-117, 1982.
Lodder, J.: The Yeast. A Taxonomic Study. North-Holland, Amsterdam, 1970.
Rippon, J. W.: Medical Mycology. W. B. Saunders, Philadelphia, 1974.
Speller, D. C. E.: Antifungal Chemotherapy. Wiley, Chichester, 1980.
Warnock, D. W., y Richardson, M. D.: Fungal Infection In the Compromised Patient. Wiley, Chichester, 1982.

Parte VII

Parasitología

Capítulo 73

Parasitología general

Gonzalo Piédrola-Angulo

GENERALIDADES

Como vimos en el capítulo 1, aunque el parasitismo es un fenómeno general de adaptación ecológica entre seres vivos que se asocian entre sí, la parasitología médica está circunscrita al estudio de los parásitos del reino animal cuando el hombre actúa como huésped; el parásito o simbionte puede ser unicelular (protozoos) o pluricelular (helmintos o artrópodos).

La relación entre dos seres vivos presenta una escala, que se inicia en la simple foresis o transporte mecánico del foronte por el hospedador para terminar en el predatismo, en el que uno de los dos seres debe morir en favor del otro. La asociación puede ser útil sólo a uno de los asociados; es el comensalismo simple que puede establecerse pacíficamente o no, como ocurre en la sinecia y sinfilia, en las que puede producirse aquél por la violencia de uno de los dos seres vivos; la esclavitud y el inquilinismo serían matices de este comensalismo.

Si los seres asociados se ayudan mutuamente con ventajas compartidas, se habla de mutualismo, que en cualquier momento puede ser disuelto, lo que permite la posibilidad de búsqueda de nuevos mutualistas con quienes formar sociedad. Pero si las relaciones son tan estrechas que se potencia la capacidad vital de cada parte, incluso frente a un enemigo común, se entra en el campo de la simbiosis, que textualmente significa subsistencia común.

Ascendiendo en la escala antes mencionada, se encuentra el parasitismo, en el que un ser vivo se une a otro en una relación íntima e ineludible, y se nutre a costa de él, sin presentar por su parte ayuda o compensación equivalente. Evidentemente existe un provecho por parte del parásito y una desventaja por parte del huésped. Este parasitismo en sentido estricto puede causar daño o lesión al huésped y convertir al parásito en patógeno, e incluso puede producirse la muerte de aquél, punto final de la escala de relaciones entre dichos seres vivos (predatismo). Pero en dicha escala no se presentan soluciones de continuidad, por lo que los límites entre comensalismo, mutualismo, simbiosis y parasitismo son muy imprecisos.

El parasitismo puede ser ocasional, facultativo (que no constituye una condición indispensable para la vida, p. ej., *Strongyloides*) u obligado, en el que el parásito, en un momento determinado de su ciclo vital o en todo él, necesita un huésped. Este parasitismo obligado es el más interesante para el hombre y a su vez puede ser permanente (ciertos protozoos, p. ej., *Trichomonas*), temporal o intermitente (artrópodos hematófagos) o periódico (ciertos helmintos, p. ej., *Taenia*).

La mayor parte de los parásitos humanos son endoparásitos, que por algún mecanismo penetran en la profundidad de los órganos y tejidos, sangre o cavidades naturales, aunque también, existen ectoparásitos que sólo actúan en la piel o sus anejos (p. ej., *Sarcoptes*).

Dos conceptos muy discutidos y diferentes, según los autores, son los de infección e infestación en parasitología. La infección para una mayoría es la invasión del huésped por un endoparásito. Infestación sería el parasitismo externo de los ectoparásitos.

Se habla de holoparasitismo, cuando la única fuente de nutrición el parásito la obtiene del huésped, y de hemiparasitismo, si existen, además, otras fuentes. Así, algunos protozoos intestinales se nutren, además, de bacterias. El superparasitismo existe en ciertos helmintos intestinales del hombre, que a su vez están parasitados por virus.

Pseudoparásitos son artefactos que se confunden con un determinado parásito y parásitos falsos, espúreos o coprozoicos son aquellas especies extrañas que recorren el tubo digestivo sin infectar al hombre y aparecen en sus heces.

Muchos parásitos son incapaces de desempeñar su papel fuera de un único y específico huésped; se denominan monoxenos y tenemos ejemplos de ellos entre los protozoos (*Trichomonas*) y helmintos (*Ancylostoma*). Otros parásitos necesitan para su ciclo dos o más huéspedes (*Plasmodium, Taenia*) y se denominan heteroxenos.

PARASITO

Existen protozoos y metazoos parásitos. Los primeros son unicelulares y poseen la típica estructura de la célula eucariota, estudiada en el capítulo 2. Los metazoos son parásitos pluricelulares, de los cuales tienen interés en parasitología clínica los helmintos o gusanos y los artrópodos. Los helmintos son metazoos de simetría bilateral y envoltura musculocutánea, y carecen de patas o apéndices articulados. El estudio de cada uno de ellos se realiza en los siguientes capítulos, y su morfología permite en la mayoría de los casos el diagnóstico y la diferenciación de las diversas especies patógenas. Por todo ello nos detendremos aquí más en la fisiología y bioquímica generales de los parásitos.

Composición bioquímica

Los parásitos poseen los mismos constituyentes que todas las células eucariotas, pero destacan por su alto contenido en hidratos de carbono. El principal de éstos en los helmintos y protozoos es el glucógeno, que será utilizado para los procesos energéticos cuando aquéllos viven en un hábitat pobre en oxígeno. Otros polisacáridos menos abundantes y más específicos tienen un gran interés por su poder inmunógeno (p. ej., en el quiste hidatídico). Las proteínas estructurales de muchos parásitos son la queratina (cestodos) y la esclerotina (quistes de protozoos y huevos de helmintos); otras proteínas estudiadas poseen carácter antigénico y en muchos casos son comunes con las del huésped. En los protozoos se encuentran fosfolípidos y esteroles en la membrana citoplásmica y triglicéridos en los lugares de almacenamiento; *Ascaris* posee lípidos complejos no esterificados, conocidos como ascarósidos A, B y C. Entre las sustancias inorgánicas de los helmintos destacan los corpúsculos calcáreos, que, además de los dos ácidos nucleicos, proteínas y polisacáridos, poseen calcio, magnesio, fósforo y otros oligoelementos.

Respiración y metabolismo

En un principio se consideró que, por vivir en el tubo digestivo, los parásitos intestinales eran anaerobios, mientras que los parásitos tisulares y hemáticos eran aerobios, porque en ellos la tensión de oxígeno es alta. Ninguna de estas aseveraciones es cierta, ya que los primeros pueden consumir oxígeno, incluso en altas concentraciones, y los segundos utilizan la vía glucolítica en anaerobiosis total.

Estructuras semejantes a las mitocondrias o ellas mismas (*Ascaris*) son las encargadas del proceso respiratorio en helmintos y protozoos. La glucólisis y el ciclo de Krebs van unidas a hemoproteínas, tipo citocromos, en la respiración aerobia. Se conocen actualmente diversas enzimas que intervienen en los procesos respiratorios de ciertos parásitos, pero aún se desconocen muchos de los mecanismos que se siguen en esta cadena. Los tripanosomas poseen una zona especializada en la respiración, el quinetoplasto.

En resumen, la mayoría de los parásitos obtienen la energía necesaria para su metabolismo a través de procesos anaerobios (p. ej., glucólisis), pero en presencia de oxígeno pueden hacer uso de actividades oxidativas. En anaerobiosis, los aceptores de electrones son sustancias orgánicas y, en aerobiosis, el oxígeno, a través de una cadena enzimática, en la que intervienen los citocromos (*T. cruzi*). Las vías metabólicas son similares a las de los vertebrados. En los hidratos de carbono, la glucosa es transformada en lactato y el fumarato puede ser el aceptor final de electrones; también pueden usarse el ciclo del glioxalato (*Ascaris*) y el de las pentosas (*E. granulosus*) como vías alternativas.

La síntesis proteica y el metabolismo lipídico son escasamente conocidos, aunque, en algun tipo de parásitos, se van descubriendo etapas de tipo intermedio de dichos procesos.

Es de gran interés conocer la competencia entre el parásito y el huésped por determinados factores nutrientes. Así, el botriocéfalo compite con el sujeto a quien parasita por la vitamina B_{12}, lo que da lugar a la aparición de un cuadro de anemia tipo pernicioso.

Fisiología

La actividad fisiológica en los protozoos se efectúa mediante las formas vegetativas, denominadas trofozoitos. En muchos casos, éstos dan lugar a quistes, caracterizados por su inmovilidad y metabolismo bajo, por lo que son formas de resistencia y multiplicación. La movilidad se establece mediante flagelos y cilios (que nacen de un elemento más o menos puntiforme, llamado blefaroplasto), pseudópodos o membrana ondulante. La multiplicación puede ser sexuada o asexuada, por división binaria; la endogenia es un mecanismo poco frecuente, en el que en el interior del protozoo se forman dos o más parásitos hijos (endodiogenia o endopoligenia), con posterior desaparición de la célula madre (*Toxoplasma*). El ciclo sexuado suele ser muy complejo; así, en *Plasmodium* existe un ciclo sexuado en el mosquito *Anopheles* y otro asexuado en el interior de los hematíes del hombre infectado. Por último, en el ciclo de *Leishmania* existen formas aflageladas en los vertebrados (amastigotes) y flageladas en los invertebrados (promastigote o leptomonas). En *Trypanosoma*, a diferencia del anterior, aparecen formas flageladas (tripomastigotes) y aflageladas (amastigotes), y en el invertebrado, otras formas flageladas diferentes (epimastigotes o critidias).

Los helmintos o gusanos pueden ser cilíndricos o planos. Poseen una envoltura cutaneomucosa, pueden tener aparato digestivo o no, y ser hermafroditas o mostrar sexos separados, aunque en cualquier caso el sistema reproductor está altamente desarrollado, para asegurar la continuidad de las especies, que poseen ciclos muy complejos con uno o varios huéspedes. Muchos de ellos cuentan con órganos especializados en succionar o atacar al huésped (*Ancylostoma*) (v. cap. 78 a 81).

Los artrópodos poseen estructuras mucho más complejas y diferenciadas y se reproducen por metamorfosis completa o no. Su estudio se realiza con detalle en el capítulo 82.

Nomenclatura

La denominación de los parásitos se ajusta a la nomenclatura binominal de Linneo (1785), en la que el primer vocablo corresponde al género y el segundo a la especie; así, la triquina se conoce como *Trichinella spiralis*. Sobre la base de caracteres morfológicos y la historia natural, las especies afines se agrupan en el mismo género, los géneros afines, en la misma familia, las familias semejantes, en superfamilias o en un mismo orden, los órdenes afines, en la misma clase y las clases, en un *Phylum*, que es una de las divisiones principales del reino. Al estudiar los protozoos, helmintos y artrópodos, veremos las principales clasificaciones, que se ajustan a los siguientes cuatro *Phylum*: *Protozoa*, *Platyhelminthes*, *Nematoda* y *Arthropoda*. Ciertos caracoles del orden *Gastropoda* y *Phylum Mollusca* poseen gran interés sanitario por ser huéspedes intermediarios de trematodos parásitos del hombre (tabla 78-2).

HUESPED

Una de las principales características importantes del huésped es su especificidad. Huésped específico es aquel que ofrece todas las posibilidades para que el parásito cum-

pla su ciclo vital bien en su totalidad o bien en la fase que forzosamente debe cumplir en aquél, si se trata de un parasitismo heteroxeno, con otra fase de vida libre. Pero este huésped específico puede ser exclusivo (monoxénico) o alternante, cuando es polixénico y sus dos o más huéspedes son exclusivos, pues en cada uno debe cubrir una fase concreta de su ciclo. Así, tan huésped específico es la vaca como el hombre en el ciclo de *Taenia saginata*, o el mosquito y el hombre en el caso del paludismo.

Ahora bien, se denomina huésped definitivo el que posee el estado adulto del parásito, en el que puede reproducirse sexualmente, a diferencia del huésped o huéspedes intermediarios, que albergan un estado larvario del parásito. Así, en *T. saginata*, la vaca es el huésped intermediario y el hombre, el definitivo. Pero, en la triquinosis, el mismo huésped es a la vez intermediario (larvas en los músculos) y definitivo (gusanos de ambos sexos en el intestino).

Los parásitos menos «exigentes» pueden lograr vivir a costa de distintos huéspedes, que no ofrecen carácter de especificidad. Todos los mamíferos carnívoros pueden ser en teoría parasitados por triquinas, o todas las especies homeotermas pueden cumplir el ciclo asexuado de *Toxoplasma*.

Por último, cuando en un huésped se desarrolla el estado larvario como refugio temporal, pero no puede continuar su desarrollo a adulto (p. ej., miasis), se habla de huésped paraténico.

RELACION HUESPED-PARASITO

Las relaciones entre el parásito y el huésped pueden dar lugar a los diferentes grados de parasitismo, con o sin alteración del huésped, que puede manifestarse en caso positivo por la aparición de síntomas y signos clínicos (enfermedad). Las relaciones son, pues, similares a las que estudiamos en los capítulos 13-17, entre la bacteria y el huésped. Habrá, pues, una toma de contacto, que requiere el conocimiento de la puerta de entrada, penetración, invasión y tropismo tisular. El huésped se defiende frente al parásito (respuesta inmunitaria inespecífica y específica) y el resultado es una acción patógena (que se demuestra por hechos clínicos más o menos patentes), la eliminación del parásito o el equilibrio entre ambos seres vivos. Epidemiológicamente, este hecho puede tener un gran valor, pues convierte en ciertos casos al huésped en portador asintomático de la parasitosis y, por tanto, en fuente de infección.

Fuentes de las parasitosis

Una infección parasitaria puede adquirirse mediante una de estas vías:

1. A partir de otra persona, por contacto más o menos directo (p. ej., *Trichomonas vaginalis*).
2. Por autoinfección, por ejemplo, en el mecanismo ano-mano-boca de la oxiuriasis.
3. Por transmisión maternofilial o congénita: *Toxoplasma*.
4. A partir de objetos contaminados, como ropas, sábanas, etc. (*Enterobius*).
5. A partir del suelo contaminado por excretas humanas (*Ancylostoma*).
6. A partir de agua o alimentos contaminados (*E. histolytica, T. spiralis*).
7. A partir de animales parasitados (*E. granulosus*).
8. Mediante artrópodos transmisores (*Plasmodium* vehiculado por mosquitos *Anopheles*).

Vías de entrada

Los parásitos pueden penetrar en el cuerpo humano por diversas vías, como la cutánea, mucosa, digestiva y respiratoria.

Cutánea

Para poder romper la continuidad del epitelio córneo de la piel, el parásito necesita atravesarlo por sí mismo o con la colaboración de un huésped intermediario transmisor. De ahí las diferentes posibilidades que encontramos en esta vía. En el primer caso, el propio parásito franquea activamente la piel por un mecanismo enzimático que la digiere; puede tratarse de un monoxeno, que necesita cubrir su ciclo vital en el medio externo o suelo (*Ancylostoma*), o heteroxeno con un ciclo caracol-agua-hombre (*Schistosoma*).

Otras veces, el parásito, siempre heteroxeno, es vehiculado con introducción de la saliva que lleva al parásito (*Plasmodium*) o es depositado en la superficie de la piel y franquea activamente la puerta abierta por la picadura; en este último caso se localiza en las piezas bucales (*Wuchereria*) o en las heces (*T. cruzi*) del artrópodo, y posteriormente atraviesa la piel, favorecido por el rascado que comporta la picadura. Otras veces el artrópodo entra y ejerce por sí mismo la acción patógena en el tejido cutáneo (*Sarcoptes scabiei*).

Mucosa

Esta es más fácil de atravesar, y así lo hacen *Toxoplasma*, *Trypanosoma cruzi*, etc.

Digestiva

Esta vía, que necesita por parte del parásito algún mecanismo para evitar la acción del jugo gástrico, puede ser sólo un paso para una futura localización tisular (*E. granulosus, T. spiralis*) o un fin, pues es en el intestino donde va a residir de forma permanente (*Entamoeba, Trichuris*).

Respiratoria

Es excepcional, y por inhalación pueden penetrar *Toxoplasma* y *Pneumocystis carinii*.

Otra vía

Una vía posible de entrada es la transfusión de sangre de enfermos o portadores a sanos (*Plasmodium*).

A partir de la puerta de entrada, y si no se ejerce aquí mismo la acción (*Trichomonas, Giardia, Enterobius, Sarcoptes*, larvas de moscas, etc.), el parásito guiado por un tropismo especial debe realizar un recorrido, más o menos complicado, hasta llegar al tejido, órgano o víscera idóneos para su desarrollo y multiplicación. Esto comporta un ciclo complejo, cuyo conocimiento es de gran interés no sólo parasitológico, sino clínico, pues puede explicar síntomas y signos de interés; estos complejos ciclos de migración aparecen tanto en protozoosis (paludismo, kala-azar) como en helmintiasis (anquilostomiasis, ascaridiasis). A veces se producen incluso emigraciones aberrantes, con presencia del gusano en lugares inesperados (*Ascaris*).

Los tejidos u órganos finales son muy variados; intestino, por ciclo directo (*Enterobius*) o complejo (*Ascaris*), sangre (*Plasmodium, Trypanosoma*), pulmones (*Paragonimus*), vénulas mesentéricas (*Schistosoma mansoni*) o vesicales (*S. haematobium*), linfáticos (*W. bancrofti*), células reticuloendoteliales (*Leishmania*), tejido subcutáneo (*Loa loa*), conjuntiva (*Onchocerca*), etc. Hay parásitos sin tropismo especial y cuya localización depende de factores anatómicos del huésped (quiste hidatídico, cisticercosis). El tiempo que dura desde la puerta de entrada, por migración interna, hasta la localización constituye el período de incubación biológico, y puede ser de días o meses.

El período de incubación clínico es el intervalo entre la exposición y la aparición de los primeros síntomas clínicos del parasitismo.

El resultado final es que, si el parásito ha conseguido superar las defensas del huésped, que más adelante estudiamos, se constituye el parasitismo propiamente dicho. Si no se consiguen superar, será destruido o eliminado. Si las fuerzas ofensivas y defensivas están equilibradas, se constituye el estado de comensalismo, que explica las infecciones «mudas», «subclínicas» y «asintomáticas», que en un momento determinado, por fallo en las defensas del huésped, pueden hacerse «aparentes» o «clínicas». Es el caso de *Trichomonas, Entamoeba, Taenia*, etc. Un parásito oportunista por excelencia es *Pneumocystis carinii*.

Acción patógena

Los parásitos pueden producir daño al huésped humano por diversos mecanismos peculiares para cada especie, que puede adoptar una o varias de las siguientes acciones:

Mecánica

Los parásitos, como cuerpos extraños que son, pueden provocar obstrucciones u otras acciones mecánicas en el lugar donde se hallan. Así ocurre con el quiste hidatídico, la cisticercosis cerebral o las filarias (en los linfáticos). A veces, la acción obstructiva se debe al gran número de parásitos: *Ascaris* en el intestino.

Traumática

Es la ocasionada por los insectos hematófagos o el arador de la sarna. Los helmintos que emigran y lesionan los tejidos tienen la misma acción (p. ej., larvas de nematodos).

Expoliadora

El parásito se aprovecha de elementos nutrientes (el botriocéfalo compite con el hombre por la vitamina B_{12}), de alimentos ya elaborados en el contenido intestinal o de la hemoglobina eritrocitaria por acción a través de la mucosa intestinal (*Ancylostoma*) o bien directamente en el interior de los hematíes (*Plasmodium*). La acción expoliadora, más o menos marcada, aparece en todas las parasitosis, y de ahí que puedan cursar con una desnutrición del individuo o agravarla.

Tóxica

Es la producida por sustancias químicas que secretan o vehiculan los parásitos, como ocurre en la necrosis lítica causada en el colon por la enzima proteolítica de *Entamoeba histolytica* o las necrosis extensas en el hígado producidas por *Fasciola hepatica*, las cuales permiten a las larvas buscar la salida hacia las vías biliares. La acción tóxica de los venenos de arañas, garrapatas, escorpiones, avispas u hormigas es muy patente.

Citopatógena

La parasitación por determinados protozoos de las células del huésped puede llevar a su destrucción. Es el caso de *Plasmodium, Leishmania* o *Toxoplasma*.

Metaplásica o neoplásica

Algunos parásitos pueden producir en los tejidos que parasitan una hiperplasia, primero, y una metaplasia o neoplasia, después. Este hecho comprobado primero en los animales se ha demostrado también en el hombre. Así, se encuentra una clara relación entre *Schistosoma* spp. y carcinomas de hígado, colon, recto y vejiga; entre *Fasciola hepatica* y *C. sinensis* y tumores de las vías biliares, y entre *Paragonimus* y *C. sinensis* y tumores pulmonares.

Infecciones secundarias

Las bacterias piógenas pueden invadir las lesiones cutáneas producidas por las larvas de anquilostomas o las picaduras de insectos. En las colitis por amebas patógenas pueden existir infecciones bacterianas asociadas. Los virus pueden ser introducidos en diversas vísceras mediante parásitos invasores o en sus migraciones internas.

INMUNOLOGIA

El huésped humano ofrece una resistencia a los parásitos mediante unas barreras mecánicas y físico-químicas inespecíficas, y una respuesta inmunitaria específica. Las primeras son similares en todos los casos y fueron estudiadas en el capítulo 17; el mecanismo de la inmunidad en el huésped varía según el parásito. En este conjunto complejo y muy importante de situaciones posibles estudiamos los siguientes aspectos.

Antígenos parasitarios

Los heteroantígenos parasitarios constituyen un grupo de sustancias proteicas, glicoproteicas, polisacáridas, lipoproteicas y lipopolisacáridas, que son inmunógenas para el huésped y se caracterizan por:

1. La variedad, pues son numerosas las especies parasitarias y con un tamaño muy variable, de micrómetros a varios metros de longitud.
2. La complejidad, pues existen mosaicos antigénicos de superficie, estructurales (que sólo se liberan por la destrucción del parásito) y metabólicos, que son secretados o excretados al medio y tienen con gran frecuencia carácter enzimático. Se ha comprobado, especialmente en *Trypanosoma*, que son más efectivos en la producción de respuesta inmune los productos metabólicos del protozoo vivo que los de éste muerto. Además, muchos antígenos denominados parasitarios no son tales, sino que proceden de huéspedes intermediarios anteriores (*Schistosoma* de caracoles) o del propio huésped animal o humano.
3. La diversidad, pues en el seno de una misma especie varían los caracteres según los estadios evolutivos y las diferentes localizaciones del proceso de migración interna.
4. La heterogeneidad, pues existen antígenos comunes a parásitos de *Phylum* muy alejados entre sí, y antígenos comunes entre ciertos parásitos y el hombre. Esto explica la frecuencia de reacciones cruzadas de diagnóstico en las parasitosis.
5. La inmunogenicidad, que es muy variable según el grado de adaptación de la especie al hombre. La respuesta inmunógena puede ser en unos casos total (celular y humoral) y en otros nula (adaptación de especies comensales, como *Entamoeba coli*).
6. La respuesta puede variar según la facilidad con que el antígeno entra en contacto con las células inmunocompetentes. Así, será excelente en las hemoparasitosis e histoparasitosis, y mucho menor en los protozoos o helmintos, que, por ejemplo, no salen de la luz intestinal o de la vagina; en estos casos, sólo si sustancias producidas por aquéllos atraviesan la lámina propia del epitelio, aparece una respuesta del sistema inmune.

La importancia de conseguir fracciones antigénicas más específicas es cada vez mayor, con fines de investigación, diagnósticos y preventivos.

Inmunidad natural

La resistencia innata impide el establecimiento de las infecciones parasitarias. Está regulada por factores genéticos, de tal forma que el establecimiento de un parasitismo es sólo posible en un número muy restringido de especies y variedades. Por ejemplo, la sensibilidad a infecciones por *L. donovani* en el ratón blanco está gobernada por alelos situados en un *locus*, en el mismo lugar y cromosomas que el *locus* que gobierna la sensibilidad a *Salmonella typhimurium*.

La inmunidad natural también depende de condiciones ambientales. Por ejemplo, hematíes con hemoglobinopatías o déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa son más sensibles a especies de *Plasmodium* que los sujetos que no las poseen.

Existen diferencias entre unas y otras razas; así, la raza negra resiste mejor a la uncinariasis y las infecciones por *P. vivax* que la blanca.

Defensas inespecíficas

La barrera cutaneomucosa constituye un primer mecanismo de defensa, que los parásitos intentan eludir, como antes hemos citado. Factores físico-químicos, como el clorhídrico gástrico, destruyen a los parásitos, siempre y cuando no ofrezcan formas de resistencia, tipo quistes o huevos. El pH vaginal impide el desarrollo de *Trichomonas*, y sólo cuando asciende aquél (causas hormonales, destrucción de *Lactobacillus* de la flora normal), es posible su multiplicación.

La respuesta inflamatoria es un proceso de gran importancia en las parasitosis, que aparece frente al parásito o a sustancias antigénicas liberadas por él. La reacción puede ser muy fuerte y mostrar tendencia a la destrucción del cuerpo extraño (necrosis) o a la formación de un granuloma no supurativo. Pero, en otros casos, la reacción es una simple producción de polimorfonucleares (*Trichomonas*) o muy débil (infecciones de prolongada evolución, como cisticercosis, triquinosis o hidatidosis) o nula (quistes de *Toxoplasma*).

La fagocitosis de ciertos protozoos puede llevar a su destrucción, pero en la mayoría de los casos constituye un mecanismo de evasión, que citamos más adelante.

El sistema del complemento parece ser de gran interés en las protozoosis y puede ser activado por vía normal, en presencia de anticuerpos unidos a su antígeno, o alternativa a partir del C_3 sin necesidad de la reacción antígeno-anticuerpo.

Por otro lado, factores generales del individuo, como el estado de nutrición, infecciones previas, profesión, hábitos o carácter del clima en la región, pueden condicionar el estado de defensas del huésped humano. Así mismo, los sujetos inmunocomprometidos por causas quirúrgicas, cánceres o enfermedades del sistema inmune, o tratados con antitumorales, radiaciones, corticoides, etc., pueden padecer parasitosis por «oportunistas», como *Pneumocystis carinii*, o agravaciones de procesos silentes o no, como toxoplasmosis o amebiasis.

Respuesta inmune específica

Aunque se acepta una división en respuesta humoral y celular, existen gran cantidad de factores solubles y poblaciones celulares, regulados y modulados por complejos mecanismos, cuyo resultado total es la respuesta inmunológica, que puede comportar o no una protección individual y efectiva.

Para algunos autores, tres hechos son relevantes de la respuesta inmune del huésped en las parasitosis humanas:

1. Algunas formas virulentas de protozoos son patógenas intracelulares obligadas, y viven y se multiplican en el interior de las células, al abrigo de los anticuerpos y células inmunes.
2. Con algunas excepciones, los metazoos no se replican en el interior del organismo. De ahí que el parasitismo dependa del número de parásitos invasores o ingeridos, de su

potencial antigénico y del tejido infectado. Esto explica que la mayoría de los huéspedes infectados tengan cuadros asintomáticos o con muy pocos síntomas, pues el sistema inmune responde muy poco o nada a los helmintos que no se replican.

3. Los agentes parasitarios sufren cambios en la forma, tamaño y superficie, durante su estancia en el huésped. La inmunidad adquirida a una forma puede no tener efecto alguno en otro estadio del ciclo vital del parásito, pues existe una variación antigénica patente.

A estos tres hechos deben sumarse los siguientes:

1. Existen diferentes tipos de inmunidad innata genéticamente regulados.
2. La cronicidad es una característica de las infecciones parasitarias, por lo que la estimulación antigénica persistente es un factor importante en las relaciones huésped-parásito.
3. Los parásitos poseen mecanismos de evasión (v. más adelante).
4. Las personas difieren ampliamente en su manera de responder a los antígenos de los parásitos.

Con estas premisas, la respuesta comporta la producción de inmunoglobulinas M, G, A y E, células T y B, macrófagos y otros tipos de células. Junto a ellas, la respuesta inflamatoria, en algunos casos con marcada importancia de los eosinófilos y en otros con fibrosis o granulomas, puede ser más o menos patente.

Ahora bien, según cada parásito y cada situación, uno de estos mecanismos puede ser puesto en juego. Así, la curación espontánea parece que depende fundamentalmente de la respuesta timodependiente, como se comprueba en los animales timectomizados, que padecen cuadros graves o la muerte, al ser infectados experimentalmente con parásitos.

Entre los componentes de esta respuesta se incluyen:

Macrófagos. Estas células de primera línea reconocen, se adhieren y fagocitan a ciertos parásitos, por mecanismos inespecíficos o mediados por anticuerpos.

Linfocitos T. El proceso de formación de un granuloma alrededor de ciertos metazoos (p. ej., *Schistosoma*) depende de las células T. En otros casos, el proceso de encapsulación depende también de estas células, proceso que, por otra parte, es el responsable de las manifestaciones clínicas.

Anticuerpos y células inflamatorias T-dependientes, linfoquinas y células cooperantes y supresoras desempeñan papeles no bien conocidos aún, en las relaciones huésped-parásito.

Anticuerpos. Los anticuerpos IgG_2, fijadores del complemento, son muy efectivos en los primeros estadios de la lucha contra oncosferas y larvas de ciertos parásitos. También las IgG_1 parecen tener efectos similares. Los anticuerpos pueden inhibir la invasión de los hematíes por protozoos, tipo *Plasmodium*. Algunas larvas de *T. spiralis* y *S. mansoni* son muy sensibles a las enzimas liberadas por eosinófilos, y otros granulocitos IgG-dependientes, IgM anticuticulares y granulocitos provocan un efecto sinérgico en la destrucción de ciertas microfilarias.

Las IgA secretoras locales tienen un gran valor protector frente a la penetración de cestodos y *Entamoeba* en la mucosa intestinal y de *T. vaginalis* en la mucosa cervicovaginal. Anticuerpos IgE reagínicos se encuentran muy elevados en las parasitosis, y su valor puede ser muy útil en la eliminación de parásitos, posiblemente mediante la desgranulación de los mastocitos y la hipersensibilidad inmediata.

Se ha descrito una IgM, similar al factor reumatoide, que hace más eficaz la respuesta humoral de IgG. Es de aparición tardía y responsable de la inmunidad de larga vida.

Los anticuerpos en las parasitosis pueden demostrarse por cualquiera de las reacciones estudiadas en el capítulo 22.

Linfocitos K asesinos. Ciertas poblaciones de linfocitos son citotóxicas para parásitos o las células parasitadas por ellos. Estas células no son timodependientes, sino todo lo contrario, pues el timo tiene un efecto supresor de las células K.

La respuesta inmunológica en cada enfermedad parasitaria puede contar con uno o varios de los componentes citados. Así, en infecciones por *T. spiralis* desempeñan un papel importante la inflamación, los linfocitos, los anticuerpos séricos y las IgE. En la toxoplasmosis se encuentran cuatro tipos de mecanismos de respuesta. Hay producción precoz de anticuerpos séricos, producción local de IgA específica, infiltración de células linfoides e hipersensibilidad retardada. En las helmintiasis por nematodos, la norma es una alta producción de IgE y eosinófilos, estos últimos aumentados a través de las linfoquinas de los linfocitos T y por el factor quimiotáctico de los eosinófilos. La aparición de IgM, IgG, IgA e IgD no protege frente a los parásitos. En el caso de los platelmintos aparecen IgG protectoras, IgA e IgE, así como reacciones celulares más o menos marcadas. En los artrópodos, la respuesta inmunológica puede expresarse en forma de reacciones de hipersensibilidad a la saliva de los vectores hematófagos o por neutralización de sustancias introducidas en el organismo (venenos de arañas y escorpiones).

La hipersensibilidad a los parásitos, señal de contacto previo con ellos, puede ponerse de manifiesto por pruebas cutáneas o *in vitro*.

Mecanismos de evasión

Hoy sabemos que la supervivencia de los parásitos puede asegurarse por una serie de mecanismos de «escape» a los factores inmunoprotectores del huésped. Se conocen los siguientes:

Imitación antigénica

Ciertos parásitos muestran en su superficie antígenos del huésped y se enmascaran así como «propios» ante el sistema inmune (*S. mansoni*). Otras veces son capaces de revestirse de inmunoglobulinas o sus fragmentos, lo que enmascara los antígenos propios del parásito.

Depleción antigénica

Se produce mediante la pérdida en la superficie del parásito de antígenos de tegumentos, como se ha demostrado en *Leishmania* y *S. mansoni*.

Variación antigénica

En *Trypanosoma brucei rhodesiense*, las glicoproteínas superficiales sufren mudas periódicas en su composición química, no dependientes de los anticuerpos previos, lo que explica las ondas de la parasitemia. Se han descrito así, en el genoma de *T. brucei*, 22 variantes de antígenos, codificados genéticamente. Estas variaciones se han comprobado también en *Plasmodium*, *Babesia* y *T. cruzi*.

Inmunotoxicidad

Fasciola hepatica produce sustancias tóxicas a los linfocitos del huésped y otras células inmunocompetentes, lo que impide los mecanismos defensivos.

Inmunosupresión

S. mansoni produce una inmunosupresión humoral y celular, que ayuda al parásito en su lucha contra las defensas del huésped. En infecciones por *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Leishmania* y *Trichinella* se observa una alteración en la función de los macrófagos y producción de linfocitos T y B, frente a todo tipo de antígenos y específicamente contra el parásito en cuestión. Esta inmunodepresión explicaría el curso de la enfermedad parasitaria e incluso la aparición de infecciones concurrentes y mal estado de salud de los individuos parasitados.

Inmunodiversión

Especies de *Plasmodium* son capaces de activar células B policlonales, distrayendo el sistema inmune de la presencia del parásito.

Inmunoindiferencia

Diversos protozoos han aprendido a sobrevivir en el interior de los macrófagos, lejos de los anticuerpos y células inmunes. Esto puede deberse a un fracaso en la fusión con el lisosoma *(Toxoplasma)*, a evitar el fagolisosoma ya formado *(T. cruzi)* o resistir a las enzimas microbicidas, que crecen y se multiplican en el interior del fagolisosoma *(L. donovani)*.

Actividad anticomplementaria

En algunos cestodos se produce en el quiste una actividad anticomplementaria que evade la acción del sistema complemento.

Reinfecciones e inmunidad duradera

La inmunidad absoluta a la reinfección, como sucede en las infecciones víricas, ocurre muy rara vez en las infecciones por protozoos y prácticamente nunca en las helmintiasis. Constituyen excepciones importantes la leishmaniosis cutánea, que deja una inmunidad durante toda la vida al que la ha padecido, y posiblemente también la toxoplasmosis, triquinosis y anquilostomiasis.

En el paludismo, lo que existe es una premonición, o resistencia por preexistencia, que hace al individuo infectado refractario a padecer la enfermedad, aunque sea inoculado por nuevos *Anopheles* contaminados en su saliva por esporozoitos de *Plasmodium*.

CLINICA

Las parasitosis pueden cursar sin sintomatología alguna (portadores), con síntomas leves o con un cuadro clínico típico y característico. Esto dependerá del número, tamaño, actividad y toxicidad del parásito, de su situación en el huésped y de la respuesta inmune de éste.

En principio debemos destacar que las manifestaciones clínicas de las enfermedades parasitarias pueden ser tan generales que, en la mayoría de los casos, la clínica sólo permite una sospecha de la posible etiología, y son la demostración del parásito, sus quistes o huevos, o la respuesta inmunológica frente a él las que permiten un diagnóstico de certeza. Si los casos son atípicos o paucisintomáticos, la confusión puede ser aún mayor.

Las lesiones producidas cambian según el cuadro clínico y su evolución. Una parasitosis puede ser un proceso agudo de pocos días de duración o adquirir una evolución crónica, más o menos larvada. El caso típico de esta variación está en *Entamoeba histolytica*, que cursa con una disentería aguda o un cuadro crónico, que puede ser disentérico, diarreico o casi sin sintomatología.

Por otra parte, los datos clínicos dependen de las lesiones histopatológicas, que pueden ser muy variadas: degeneraciones, infiltraciones, necrosis, pigmentaciones, calcificaciones, trastornos circulatorios y, la más típica, inflamación reactiva al cuerpo extraño, que representa el parásito.

Las enfermedades parasitarias suelen aparecer de un modo lento y el cuadro clínico se instaura de forma gradual; sólo cuando el número de parásitos es excepcionalmente alto *(Trichinella, Ascaris)* o el sujeto es muy sensible *(Plasmodium)*, puede aparecer un cuadro agudo. Entonces, la fiebre, toxemia, dolor y otros signos físicos de enfermedad son patentes. Pero la norma es que el proceso sea subagudo y el sujeto comience con pérdida de peso, anemia, adormecimiento, febrícula y otros signos mal definidos. Más adelante, la respuesta inmunitaria, los fenómenos alérgicos y el estado del sujeto marcarán significativas diferencias entre los síntomas de unos individuos y otros.

Esto hace que las parasitosis constituyan un grupo de enfermedades cuyo diagnóstico hay que «sospechar». Si se trata de una región tropical, donde estas enfermedades son frecuentes y los médicos están avanzados en la práctica diaria, los problemas diagnósticos son más fáciles de resolver. Pero si se trata de países con escasas parasitosis, templados o fríos, los peligros de error son mucho mayores, y este hecho hoy día no es infrecuente, con las rápidas comunicaciones actuales y los hábitos cada vez más normales de trasladarse de unas zonas a otras, por las más diversas causas.

DIAGNOSTICO

La mayoría de los síntomas de las parasitosis son inespecíficos o poco diferenciados, de aparición subaguda o cróni-

ca, y hacen difícil el diagnóstico clínico exacto. Por esto, el médico ante un cuadro en que «sospecha» que pueda tratarse de una parasitosis debe solicitar la ayuda del laboratorio.

Los síntomas generales son anorexia, pérdida de peso, astenia, cefaleas, alteraciones en las curvas de talla y peso de los niños, prurito, convulsiones, insomnio, etc. En las parasitosis intestinales pueden aparecer diarrea más o menos marcada, dolores abdominales y meteorismo. En las hemo e histoparasitosis pueden observarse, junto a la fiebre, mialgias, anemia o alteraciones mecánicas expansivas en el lugar de localización.

El diagnóstico de laboratorio intenta demostrar la presencia del parásito o la respuesta inmune frente a él; de ahí que pueda hablarse de un diagnóstico directo e indirecto.

Directo

Los parásitos principales pueden encontrarse en las heces, la sangre y otras localizaciones. En las heces deben diagnosticarse parásitos completos o no (*Ascaris, Taenia, Fasciola, Entamoeba, Giardia*, etc.), quistes de protozoos (*Entamoeba, Giardia, Balantidium*) o huevos de helmintos (*Enterobius, Ascaris, Trichiuris, Taenia, Schistosoma, Fasciola*, etc.). En la sangre pueden observarse *Trypanosoma, Plasmodium* o las microfilarias. Otras localizaciones serían la presencia de *Trichomonas* en exudado vaginal, *Echinococcus* en vómica, *Fasciola* o *Giardia* en sondaje duodenal o la presencia de distintos parásitos en productos biópsicos (*Leishmania*).

Los exámenes complementarios importantes son el hemograma (anemia, eosinofilia, leucocitosis), radiografía, gammagrafía, tomografía computarizada, ecografía, fondo de ojo (*Toxoplasma*) y técnicas endoscópicas. La eosinofilia es un signo muy frecuente de las parasitosis, siempre y cuando se compruebe por recuento de estas células y no por la simple fórmula leucocitaria. Las protozoosis no suelen cursar con eosinofilia, a excepción de la toxoplasmosis cuando cursa con gran afectación ganglionar. Los helmintos tisulares son los que dan eosinofilias más altas (triquinosis, esquistosomiasis, filariasis), a diferencia de los intestinales, en que son mucho menos marcadas (*Ascaris, Trichuris, Taenia*). La evolución de la cifra absoluta de eosinófilos es utilizada por muchos como índice pronóstico y terapéutico. Nunca se olvidará que existen eosinofilias no parasitarias (alérgicas, víricas, linfopatías tumorales, poliarteritis o posradioterapia).

Indirecto

Se realiza mediante la búsqueda de anticuerpos por las reacciones antígeno-anticuerpo, que en cada parasitosis se verá cuál es la más idónea. Los tests intradérmicos de hipersensibilidad indican la existencia de una infección antigua o reciente.

TRATAMIENTO

Existen en la actualidad gran número de fármacos útiles para el tratamiento de las enfermedades parasitarias. Una buena quimioterapia exige productos con efectos tóxicos mínimos en los tejidos del huésped y con acción máxima sobre los parásitos. Los antiprotozoarios, antihelmínticos e insecticidas más utilizados en cada una de las parasitosis serán citados con el estudio de éstas.

En muchos de los enfermos parasitados se seguirán tratamientos sintomáticos (rehidratación, antiinflamatorios, antitérmicos, etc.), y en contados casos es imprescindible la colaboración de un tratamiento quirúrgico, etiológico (quiste hidatídico, cisticercosis) o por las complicaciones que puedan producirse (íleo, apendicitis, etc.).

EPIDEMIOLOGIA

Cada una de las parasitosis posee un ciclo epidemiológico característico, relacionado con el ciclo vital que necesita el parásito para la supervivencia de la especie. La variedad de ciclos es enorme y podemos agruparlos, a rasgos generales, en:

1. Ciclo directo o contagio directo, por contacto (*Trichomonas*) o por vía placentaria (*Toxoplasma*).
2. Enfermedades fecohídricas y alimentarias (*Entamoeba, Taenia, Trichinella*).
3. Enfermedades de origen telúrico: *Ancylostoma, Ascaris, Entamoeba*.
4. Antropozoonosis, como *Trichinella, Toxoplasma, Echinococcus*.
5. Parasitosis vehiculadas por artrópodos, como *Plasmodium, Leishmania*.

Muchas parasitosis pueden utilizar varios de estos mecanismos en su ciclo vital, que será estudiado en cada una de ellas con detalle.

Destacamos el valor de los factores ecológicos (clima, pluviosidad, radiaciones solares, terreno, etc.) y los económicos, sociales y culturales que condicionan la aparición y distribución de las parasitosis en las diversas partes del mundo. Estos factores caracterizan el grupo de parasitosis, como enfermedades tropicales. Es lógico que en estas zonas, donde cada biotipo está ocupado por una gran biomasa o carga total de seres vivos existentes, las condiciones de producirse contactos entre los diferentes eslabones de la cadena de infección son máximas, y de ahí los centenares de millones de sujetos que se encuentran expuestos a las enfermedades parasitarias.

Ciertas parasitosis son esporádicas en ciertas zonas, otras son epidémicas y muchas, endémicas, en mayor o menor grado, de amplias zonas habitadas. La investigación en cada zona de la incidencia y prevalencia de todas ellas, la distribución por edades, sexo o profesiones, el papel de cada especie o subespecie vectora en las distintas áreas y el papel que desempeñan todos y cada uno de los factores epidemiológicos en su desarrollo será una misión muy importante de los estudios epidemiológicos, que deben siempre realizarse.

Por último, como ya hemos citado, las enfermedades parasitarias pueden aparecer en zonas insospechadas, como países templados o fríos, a causa de las rápidas comunicaciones internacionales.

PROFILAXIS

La profilaxis de las enfermedades parasitarias requiere una tarea compleja y multidisciplinaria, que bajo las autori-

dades sanitarias debe plantearse, entre otros, los siguientes aspectos:

1. Búsqueda de los reservorios y fuentes de infección; control de éstos. Esto requiere el conocimiento de la historia natural completa de la enfermedad.
2. Saneamiento del medio ambiente (abastecimiento de aguas, aguas residuales, etc.).
3. Higiene general de los individuos, familias y sus viviendas.
4. Control de la higiene alimentaria. Mejora de los hábitos de alimentación de las poblaciones.
5. Control de los artrópodos vectores y otros huéspedes intermediarios.
6. Quimioprofilaxis y vacunaciones. Son muy contados los parásitos humanos en los que pueden realizarse inmunizaciones, y éstas están en período de experimentación: *Leishmania*.
7. Mejora del nivel socieconómico y cultural de las poblaciones.
8. Educación sanitaria de los individuos enfermos, portadores y población en general.
9. Actuaciones sobre el personal sanitario a todos los niveles, para controlar los aspectos médicos y sanitarios de las parasitosis. Educación continuada en este sentido. Creación de centros a los distintos niveles, capaces de asesorar, diagnosticar y controlar las enfermedades parasitarias humanas.
10. Inclusión de estos problemas en los programas de salud de los gobiernos afectados.

Apéndice: diagnóstico parasitológico en las heces

El diagnóstico de las parasitosis intestinales depende en gran parte del hallazgo de huevos, larvas o helmintos completos, o de trofozoitos y quistes en el caso de los protozoos. Por esto, las muestras destinadas a fines diagnósticos deben recogerse y manejarse de forma que lleguen al laboratorio en un estado que permita su correcta identificación.

Toma de muestras

Las muestras fecales pueden ser recogidas de evacuaciones por vía natural o tras purgante. En el primer caso, la muestra será recogida en un recipiente limpio y seco, y enviada al laboratorio lo más rápidamente posible; irá acompañada de la filiación del enfermo y de la hora de evacuación, pues los trofozoitos mueren pronto fuera del organismo y un resultado negativo sería erróneo, tras muchas horas dedicadas al estudio de la muestra.

En otros casos es preferible y necesario administrar un purgante, con el fin de aumentar la posibilidad del hallazgo de parásitos. Será un purgante salino, como sulfato de sodio o fosfato y carbonato de sodio; no deben usarse aceites minerales o compuestos de bismuto o magnesio, ya que las gotas o cristales procedentes de ellos pueden enmascarar los parásitos o confundirse con trofozoitos.

Si las muestras tardaran mucho en ser examinadas, deberán ser mantenidas a temperatura ambiente o ligeramente frescas y nunca en estufa o nevera, a cuya temperatura se destruyen muchos parásitos. Pero si el retraso va a ser grande, para preservar huevos, larvas o quistes, se deben mezclar las heces con alguno de estos productos que evitan su destrucción:

1. Formol al 5-10 %; se mezcla un volumen de la muestra con tres del formol así diluido.
2. Fijador PVA (alcohol de polivinilo); también se mezclan tres volúmenes de PVA por volumen de la muestra fecal.
3. Solución MIF (solución de mertiolato-yodo-formol), que preserva tanto trofozoitos como quistes, y es el método más recomendado.
4. Fijador PAF (fenol-alcohol-formol).

En el caso de gusanos adultos o anillos de tenias, el envío debe hacerse previa separación de las heces en solución fisiológica. Como la expulsión de ciertos parásitos es intermitente, para aumentar las posibilidades de su hallazgo es muy adecuado el estudio de tres muestras con un intervalo de 2 a 3 días, entre unas y otras.

En algunos parásitos intestinales puede requerirse la búsqueda mediante técnicas especiales, como la de Graham, que se describe con detalle en *Enterobius vermicularis* (cap. 80).

Métodos de examen

El examen macroscópico es siempre interesante para la búsqueda de parásitos enteros o que permiten un hallazgo visual directo.

Los métodos para el examen microscópico varían en su efectividad según el tipo de parásito que se busca, el tiempo transcurrido tras la defecación, el equipo técnico de laboratorio y el tiempo de que se dispone para la observación. Ningún método es eficaz al 100 %, por lo que es preciso conocer varios de ellos, así como sus ventajas e inconvenientes. Cuatro son los principales:

Examen directo de preparaciones húmedas

Es el método más sencillo y requiere la dilución de las heces si son frescas o no preservadas, pues en este caso ya se encuentran diluidas en las soluciones antes citadas. Para la dilución puede utilizarse solución salina, que es el medio más natural y en el que se identifican bien huevos y quistes, e incluso observarse la movilidad de los trofozoitos.

Para mejor reconocer los protozoos intestinales, puede teñirse la muestra con soluciones de yodo (1 %), lo que permite una mejor visualización de los quistes, los núcleos y sobre todo *Iodamoeba bütschlii*.

Métodos de concentración

Cuando los parásitos son escasos o no se encuentran en las preparaciones húmedas directas, deben concentrarse las

heces. Los métodos de concentración pueden aplicarse para huevos y larvas de helmintos y quistes de protozoarios, pero los trofozoitos se deforman o destruyen con la concentración. Las técnicas de concentración se dividen en métodos de flotación y de sedimentación. Para las técnicas de flotación, las soluciones deben tener densidad mayor que los huevos, larvas y quistes que contiene la muestra; así, éstos flotarán en la superficie de la solución. Para las técnicas de sedimentación, las soluciones deben permitir que dichos elementos se reúnan en el fondo del tubo.

Flotación. Se utilizan soluciones con densidad mayor que los parásitos estudiados, de modo que éstos suban a la superficie y el resto de la muestra se concentre en el fondo del tubo. Las técnicas más frecuentes son:

1. Flotación en sulfato de cinc por centrifugación. El sulfato de cinc es una solución acuosa al 33 %, cuya densidad es de 1,20.
2. Flotación en salmuera. La salmuera es una solución acuosa saturada, que se prepara con sal común y cuya densidad es de 1,20.

Las técnicas de flotación son muy útiles para quistes de protozoos y huevos de helmintos, sobre todo de *Ascaris, Trichuris, Taenia* e *Hymenolepis nana*, pero van mal para huevos operculados.

Sedimentación. En estas técnicas, los parásitos se sedimentan por gravedad o centrifugación. Las técnicas de sedimentación resultan útiles para encontrar quistes de protozoarios y huevos y larvas de helmintos, incluidos los huevos operculados.

1. Las heces se suspenden en agua del grifo y la sedimentación puede conseguirse por simple gravedad, lo que requiere mucho tiempo; tiene la ventaja de que no se destruyen los huevos degenerados.
2. También puede acortarse el tiempo centrifugando la suspensión fecal.
3. En varias técnicas de sedimentación se utilizan soluciones químicas, como ácido clorhídrico y acético, para aclarar el material y separar los parásitos de los restos fecales. Teleman, en 1908, ideó la primera de estas técnicas, un método con ácido y éter, que no da buenos resultados con los protozoos.
4. Reemplazando el ácido por el formol se obtiene una técnica de sedimentación muy eficaz para encontrar tanto helmintos como protozoos. Esta es la técnica de sedimentación con formol y éter (FE), la más útil como técnica diagnóstica habitual.

Tinciones permanentes

A veces pueden teñirse frotis de materias fecales para la identificación de parásitos, pero sobre todo se hace para conservación de la colección y consulta cuando se desea. Entre las principales tinciones se incluyen:

1. Tinción de Heidenhain con hematoxilina férrica.
2. Tinción de Miller con hematoxilina y ácido fosfotúngstico.
3. Tinción de Wheatley, tricromática.

Cultivo

Tiene dos ventajas: aumenta el número de parásitos para observación posterior y mejora las condiciones de trofozoitos que podrían estar degenerando. Es una técnica útil para muestras frescas cuando los parásitos son muy escasos. En los principales cultivos se han empleado:

1. Extracto de hígado.
2. Infusión de yema de huevo.
3. Extracto alcohólico de huevo.

BIBLIOGRAFIA

Aparicio Garrido, J.: Técnicas de laboratorio en Parasitología Clínica. Marban, Madrid, 1966.

Atias, A., y Neghme, A.: Parasitología Clínica. Interamericana, México, 1978.

Bailenger, J.: Coprologie Parasitaire et Fonctionelle, 4.ª ed. Bailenger, Bordeaux, 1982.

Brooks, T. J.: Essentials of Medical Parasitology. Macmillan, New York, 1963.

Brown, H. W., y Neva, F. A.: Basic Clinical Parasitology, 5.ª ed. Appleton Century-Crofts, Norwalk, 1983.

Cheng, Th. C.: Parasitología General. AC, Madrid, 1978.

Cohen, S., y Sadun, E. H.: Immunology of Parasitics Infections. Blackwell, Oxford, 1976.

Craig y Faust: Parasitología Clínica. Salvat Editores, Barcelona, 1974.

Katz, M.; Despommier, D. D., y Gwadz, R.: Parasitic Diseases. Springer, New York, 1982.

Noble, E. R., y Noble, G. A.: Parasitology, 4.ª ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1976.

Yamaguchi, T.: Clinical Parasitology. Wolfe, Tokyo, 1981.

Zaman, V.: Atlas en color de parasitología clínica. Panamericana, Buenos Aires, 1979.

Capítulo 74

Protozoos: Sarcodina y Ciliophora

José Angel García-Rodríguez

Los protozoos son seres unicelulares de estructura eucariótica, de los que se han descrito unas 50.000 especies, y de ellas sólo una veintena son patógenas para el hombre. Sus diferencias con las bacterias y algas fueron estudiadas en el capítulo 2 (tabla 2-1).

La estructura de la célula eucariótica del protozoo consta de protoplasma y núcleo. El primero está formado casi siempre por una zona delgada periférica (ectoplasma) y otra interna, muy compleja, o endoplasma. El citoplasma posee importantes funciones, como el movimiento, la ingestión de alimentos, la excreción y, en algunos casos, la respiración. Los órganos de locomoción son variados y constituyen una importante base para la clasificación; pueden tratarse de flagelos (uno o varios), cilios, pseudópodos o membranas ondulantes. En los géneros *Toxoplasma* y *Sarcocystis*, el movimiento se debe a un inaparente orgánulo. En los protozoos flagelados y ciliados existe un cuerpo basal, en relación con aquéllos y con funciones de coordinación de los movimientos; en *Mastigophora* existe un kinetoplasto (ADN), formado por el cuerpo parabasal, y el blefaroplasto, de donde nace el flagelo.

El endoplasma granular posee funciones de nutrición y en él existen vacuolas digestivas, de reserva o contráctiles (con misión de eliminación y regulación osmótica). Los cuerpos cromatoides, formados por ácidos nucleicos y fosfatos, serían órganos de almacenamiento.

El núcleo es el responsable del control de las funciones vitales y la reproducción. Puede ser vesicular o compacto, y posee una membrana nuclear, un retículo con el ADN cromosómico y los nucléolos o cariosomas. La forma, el tamaño y el número de los núcleos poseen gran valor taxonómico y diagnóstico. Así, *Balantidium* posee dos núcleos, uno grande en relación con actividades vegetativas y que se divide amitóticamente y un micronúcleo con funciones reproductivas, que se divide por mitosis.

La fisiología de esta célula muy compleja comprende todas las actividades: movimiento, alimentación (por absorción fagocitaria, pinocitosis o ingestión, gracias a un citostoma-citofaringe), digestión (en vacuolas), excreción (por difusión, vacuolas contráctiles o citopigio) y respiración, casi siempre aerobia. Muchos protozoos secretan toxinas y enzimas al medio, cuyo interés patógeno es muy grande.

Algunos protozoos, en condiciones desfavorables (deficiencia de material nutritivo, cambios profundos del pH, humedad, oxígeno, etc.), forman quistes por secreción de una pared muy resistente. El estado quístico permite la supervivencia fuera del huésped y el salvar las barreras de éste a la entrada (jugos digestivos); ambas situaciones no permitirían la vitalidad de las formas vegetativas o trofozoitos. Además del enquistamiento de protección, existe un enquistamiento de reproducción, típico de las amebas libres y flagelados; en ellos, el núcleo se divide una o más veces durante la fase quística, con el correspondiente incremento en el número de trofozoitos después del enquistamiento.

La reproducción en los protozoos puede ser asexuada y sexuada. La primera es la más simple y se produce por fisión binaria longitudinal *(Trypanosoma)* o transversal *(Balantidium)*, tras división del núcleo por mitosis, amitosis o formas intermedias. La endodiogenia o endopoligenia es la

Tabla 74-1. Principales protozoos patógenos para el hombre

Phylum o subphylum	Género	Especie
Sarcodina	*Entamoeba*	*histolytica*
	Naegleria	*fowleri*
	Acanthamoeba	*culbertsoni*
		castellani
		astronyxis
		poliphage
Mastigophora	*Leishmania*	*donovani*
		tropica
		braziliensis
		mexicana
	Trypanosoma	*gambiense*
		rhodesiense
		cruzi
	Giardia	*lamblia (intestinalis)*
	Trichomonas	*vaginalis*
Apicomplexa	*Plasmodium*	*vivax*
		malariae
		falciparum
		ovale
	Toxoplasma	*gondii*
	Pneumocystis	*carinii*
	Isospora	*hominis*
		belli
	Sarcocystis	
	Cryptosporidium	
Ciliophora	*Balantidium*	*coli*

Modificado de T. Sun: Pathology and Clinical Features of Parasitic Diseases, 1982.

producción de dos o muchas células hijas en el interior de una madre, con liberación por destrucción de ésta (*Toxoplasma*). La fisión múltiple o esquizogonia es típica de *Plasmodium*.

La reproducción sexual comporta la unión o singamia de dos gametos, masculino y femenino; existen diversas formas de singamia. Los dos gametos pueden ser iguales (isogamia) o no (anisogamia, p. ej., *Plasmodium*). En *Paramecium* y *Vorticella*, el paso de material genético entre dos conjugantes es muy complejo. Las fases sexuadas y asexuadas del ciclo de un protozoo pueden tener lugar en un huésped o en varios, más o menos específicos.

Muchos protozoos del intestino, cavidades naturales y sangre del hombre pueden cultivarse en medios inertes artificiales, aunque muy enriquecidos. Este hecho es de gran interés en el diagnóstico, investigación e incluso vacunación de las enfermedades producidas por ellos.

La inmunidad en las protozoosis reúne los caracteres citados en el capítulo anterior. En líneas generales, la respuesta en los parásitos intestinales y genitales es muy débil o nula y en los hemáticos y tisulares, mucho más marcada.

Desde el punto de vista epidemiológico, 3 son los principales mecanismos de transmisión de las protozoosis: ingestión de agua o alimentos contaminados, transmisión por contagio directo o contacto y transmisión por artrópodos, con uno o varios huéspedes intermediarios.

La clasificación de los principales protozoos patógenos se recoge en la tabla 74-1.

Sarcodina: Entamoeba

El *subphylum Sarcodina* incluye los protozoos móviles dotados de pseudópodos. En la tabla 74-2 aparecen relacionados aquellos que parasitan al hombre. Todos, excepto *Dientamoeba fragilis*, poseen fase de trofozoito y quiste.

Son patógenos humanos *Entamaeba histolytica, Naegleria fowleri, Acanthamoeba culbertsoni, A. castellani, A. astronixis* y *A. poliphage. Endolimax nana, E. coli* y *Iodamoeba bütschlii* se consideran no patógenas, aunque se han descrito cuadros diarreicos leves, producidos por la primera.

El hábitat de *E. histolytica, E. hartmanni, E. coli* y *E. polecki* es el tubo intestinal, mientras que el de *E. gingivalis* es la cavidad bucal. Aunque se ha descrito algún cuadro producido por *E. polecki*, la única especie patógena de este género parece ser *E. histolytica*.

E. HISTOLYTICA

E. histolytica, protozoo comensal del intestino grueso, que en ocasiones invade la mucosa intestinal, y puede diseminarse por vía hemática, fue descubierto por Löch, en 1875, en un paciente aquejado de un cuadro diarreico crónico. No obstante, fue Kartulis, en 1887, quien demostró por vez primera su papel patógeno. Posteriormente, y en 1901, Councilman y Lafleur describieron la patogénesis de la disentería y absceso hepático.

Es el agente responsable de la amebiasis, o mejor amebiasis entamoébica (para diferenciarla del cuadro producido por *Naegleria* y *Acanthamoeba*, amebiasis no entamoébicas), afección cosmopolita, aunque de mayor incidencia en el trópico y zonas subtropicales.

Tabla 74-2. Parásitos humanos del subphylum Sarcodina

Géneros	Especies
Entamoeba	*E. histolytica*
	E. hartmanni
	E. coli
	E. polecki
	E. gingivalis
Naegleria	*N. fowleri*
Acanthamoeba	*A. culbertsoni*
	A. castellani
	A. astronyxis
	A. polyphage
Endolimax	*E. nana*
Iodamoeba	*I. bütschlii*

Morfología

E. histolytica presenta dos formas: trofozoito y quiste, que constituyen, respectivamente, la forma invasiva e infectante (fig. 74-1).

El trofozoito, o forma móvil, es extraordinariamente pleomórfico, ya que su aspecto y movilidad están muy influidos por los cambios de pH, potencial redox y osmolaridad. Se multiplica por fisión binaria y es muy sensible al jugo gástrico y a los agentes externos. Su hábitat comprende la luz y pared del colon y especialmente sigma y recto.

Su tamaño es muy variable y oscila entre 10 y 60 µm. Las formas más pequeñas corresponden a las «no invasivas», que algunos refieren como «formas minuta» o «trofozoitos de la luz intestinal», y se encuentran habitualmente en los casos asintomáticos. Las de mayor tamaño son las «formas invasivas» o «trofozoitos tisulares», que a diferencia de los anteriores no aparecen en la luz intestinal y poseen en el endoplasma restos celulares y hematíes.

La pared periférica del trofozoito, que recibe el nombre de ectoplasma, es hialina y retráctil. Los pseudópodos son prolongaciones del ectoplasma y proporcionan una movilidad al parásito de aproximadamente 50 µm/seg.

El endoplasma tiene una estructura granular fina y, en las formas mayores, abundantes vesículas y vacuolas, que contienen restos celulares y hematíes intactos o en vías de degradación, pero no bacterias.

El núcleo es excéntrico, redondo y posee un pequeño cariosoma central. La cromatina aparece repartida periféricamente de forma uniforme y adosada a la membrana nuclear.

El trofozoito se nutre por fagocitosis a expensas de los tejidos disueltos y hematíes, y se ayuda de los pseudópodos.

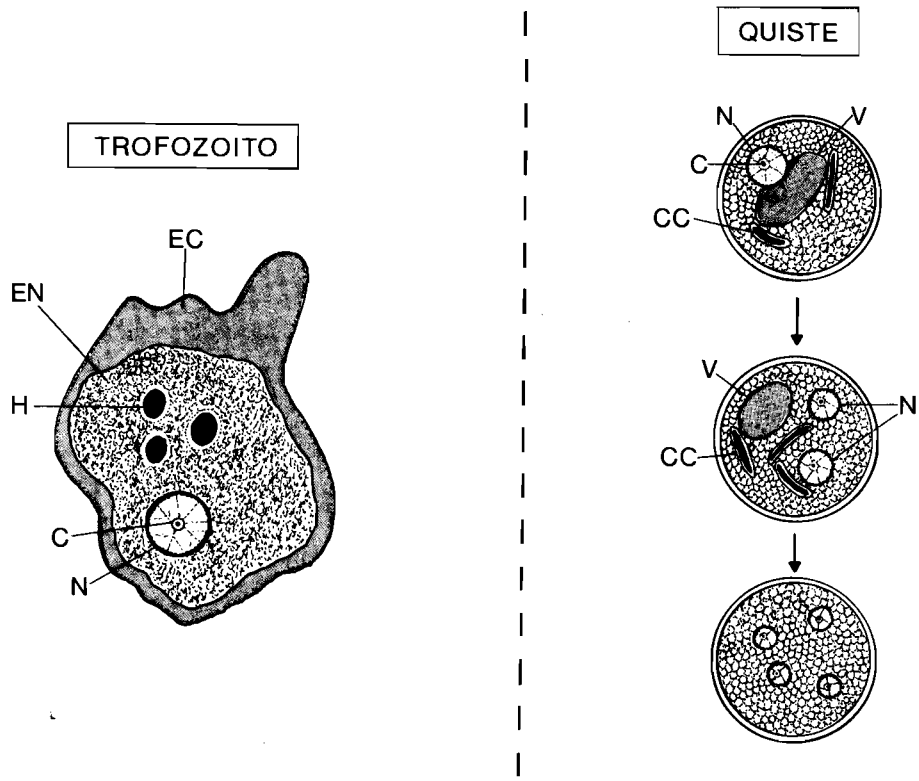


Fig. 74-1. Trofozoito y quiste de *E. histolytica*. C, cariosoma; N, núcleo; EN, endoplasma; EC, ectoplasma; H, hematíe; CC, cuerpos cromatínicos; V, vacuola.

Al microscopio electrónico no se detecta aparato de Golgi, microtúbulos, mitocondrias ni retículo endoplásmico rugoso.

La considerada tradicionalmente raza pequeña de *E. histolytica* se conoce hoy como una especie distinta, *E. hartmanni*, que no es patógena. El trofozoito tiene un tamaño de 10 µm y el quiste, de 6-8 µm.

El quiste o elemento infectante es redondo u oval y de 10-25 µm de tamaño. Posee una pared de 0,6 µm y es resistente al jugo gástrico, factores ambientales externos y cifras habituales de cloro del agua.

Se forma por evolución del trofozoito y posee de 1 a 4 núcleos, según la fase de maduración. Los quistes jóvenes tienen 1 ó 2 núcleos, algunos cuerpos cromatínicos y vacuolas de glucógeno. Cuando el quiste madura, posee 4 núcleos y desaparecen los cuerpos cromatínicos. Sólo los quistes maduros son infecciosos. Los cuerpos cromatínicos contienen principalmente ácidos nucleicos y fosfatos.

Ciclo biológico

Es bastante simple (fig. 74-2). El quiste ingresa por vía digestiva, vehiculado por los alimentos, especialmente por el agua. En el tramo final del intestino delgado se produce la rotura de su pared y la liberación de una ameba metaquística, de 4 núcleos, que posteriormente va a dar lugar a 8 amebas unicelulares uninucleadas de pequeño tamaño. Estas alcanzan el colon, donde maduran y se transforman en los llamados «trofozoitos de la luz intestinal», que se dividen por fisión binaria, se eliminan con las heces y se destruyen en el medio ambiente. Otras veces se transforman en quistes inicialmente uninucleados, que después maduran y son eliminados igualmente por las heces. En algunas ocasiones, la maduración del quiste tiene lugar en el medio externo. Estos trofozoitos, de pequeño tamaño, son más abundantes en las infecciones crónicas y en los portadores que en los cuadros agudos.

En determinadas circunstancias, los trofozoitos anteriores adquieren capacidad invasiva y, por la acción de proteasas, hialuronidasa y mucopolisacaridasas, erosionan la mucosa y a veces la ulceran y alcanzan incluso la submucosa. Estos trofozoitos o «trofozoitos tisulares» son de mayor tamaño, poseen mayor movilidad, son hematófagos, no se transforman en quistes y no suelen salir por las heces. A través del sistema portal pueden alcanzar el hígado u otros órganos.

Determinantes de patogenicidad del parásito

E. histolytica se comporta habitualmente como un protozoo comensal del intestino grueso, pero con capacidad de invadir la mucosa intestinal y propagarse a distancia. No están suficientemente aclaradas las causas por las que se produce el paso de comensal a invasivo y el porqué en unas personas la infección apenas produce sintomatología, en tanto que en otras se presenta como una enfermedad grave. En todo caso se debe a una rotura del equilibrio huésped-parásito.

Se tienen pocos datos sobre los determinantes parasitarios de patogenicidad. Los más importantes son los siguientes:

Número de parásitos

Está probado de forma experimental que, al aumentar el número de amebas en el inóculo, se favorece la aparición de lesiones intestinales.

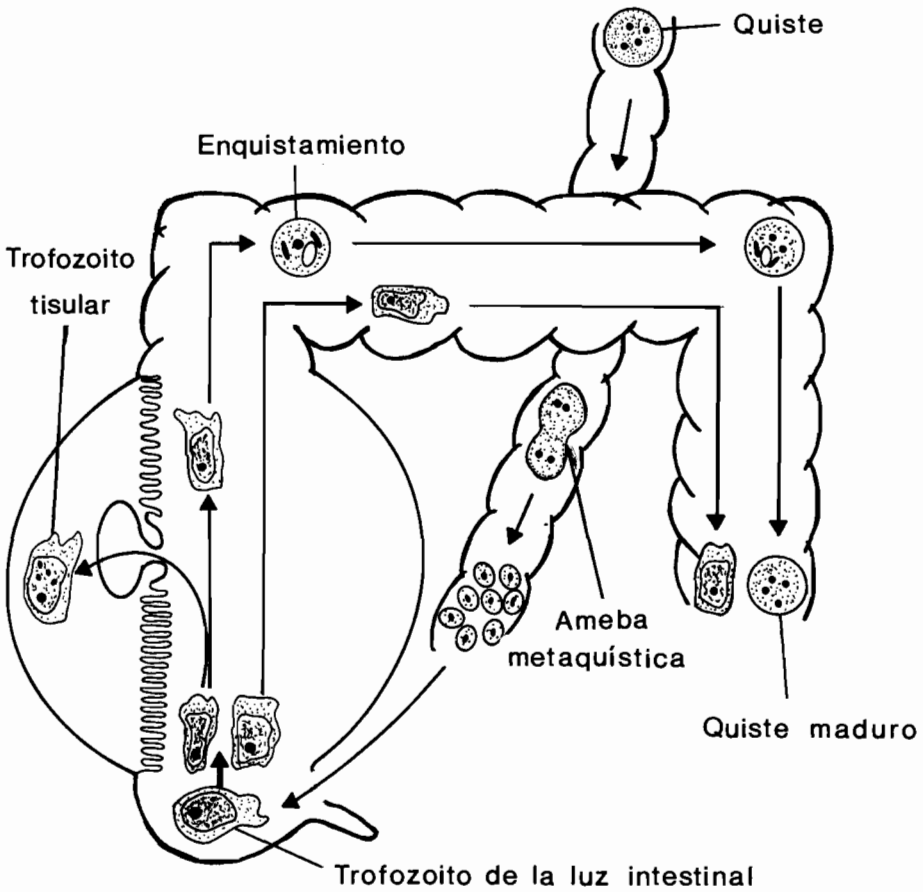


Fig. 74-2. Ciclo biológico de *E. histolytica*.

Virulencia y capacidad invasiva de la cepa

Existen diferencias significativas en el poder patógeno de unas cepas a otras. No todas las cepas de *E. histolytica* son patógenas; incluso dentro de cada cepa parece existir una mezcla heterogénea de subcepas con diferentes grados de virulencia.

Se han descrito una serie de marcadores de patogenicidad comunes a las cepas patógenas y que están ausentes en las no patógenas. Los más importantes son el efecto citopático *in vitro*, capacidad fagocitaria elevada de eritrocitos y aglutinación intensa con concavalina A.

Movilidad

Al tratarse de un protozoo con capacidad de emitir pseudópodos, posee una intensa movilidad que favorece su penetración en la pared intestinal.

Enzimas

La dotación enzimática de *E. histolytica* no se conoce bien, pero los datos obtenidos *in vitro* sugieren que produce proteasas, mucopolisacaridasas, colagenasa e hialuronidasa, que, de la misma forma que la movilidad, favorecen la penetración de la capa de moco que recubre la mucosa intestinal y, posteriormente, la pared.

Toxinas

No han sido definidas, pero parece que se trata de citotoxinas con efecto citopático y enterotóxico y posiblemente de actividad proteásica. Aunque estas toxinas no se han caracterizado, se ha comprobado que el contacto de trofozoitos con células produce importantes alteraciones en éstas.

Factores favorecedores del huésped

Existen factores por parte del huésped que condicionan el diferente grado de resistencia que presentan unas personas en relación con otras. Los principales son: el grado de inmunidad innata, estado de nutrición, enfermedades debilitantes, higiene individual y sobre todo las condiciones del tubo digestivo.

La invasión de la mucosa intestinal está favorecida por una serie de hechos que inciden sobre ella y disminuyen de alguna forma la resistencia que en condiciones normales parece poseer.

Los más importantes son:

1. Dieta abundante en hidratos de carbono y pobre en proteínas y ácido ascórbico. No obstante, este punto no está suficientemente aclarado, pues algunos afirman que no favorece la invasión, sino simplemente la colonización.
2. Agresiones físicas o químicas de la mucosa, estasis intestinal y cifras altas de colesterol en suero.

3. Flora bacteriana intestinal. Experimentalmente se ha comprobado que es necesaria la presencia de bacterias para producir cuadros intestinales. El mecanismo de actuación sería debido a una o varias de las causas siguientes:

a) La flora bacteriana disminuiría el potencial redox, lo que favorecería el establecimiento de *E. histolytica* en el intestino.

b) Las bacterias proporcionarían al parásito nutrientes que él no puede sintetizar, principalmente hierro, que es un elemento esencial para la multiplicación parasitaria.

c) Las bacterias transmitirían al parásito algún elemento similar a los plásmidos, que transformaría las cepas no patógenas en invasivas.

No obstante, el papel bacteriano no debe ser determinante, pues las lesiones hepáticas humanas y experimentales se originan en ausencia de bacterias.

Patogenia

Las amebas se multiplican como «trofozoitos no invasivos» en la luz intestinal, colonizando el colon y transformándose posteriormente en quistes. En los cuadros sintomáticos, el proceso evoluciona en tres fases:

Adherencia

Aunque *E. histolytica* puede adherirse *in vitro* a la superficie de células epiteliales, hematíes y macrófagos, se sabe poco acerca del proceso de adherencia *in vivo*. Este proceso de adhesión *in vitro* es producido tanto por las cepas virulentas como por las avirulentas. Sin embargo, *in vivo*, los trofozoitos en forma comensal no se adhieren al epitelio, pues aparecen separados de él por los *microvilli*, moco, flora bacteriana y restos celulares.

La adherencia intestinal se realiza fundamentalmente con las células del epitelio de descamación, lo que explica que la penetración en la mucosa tenga lugar preferentemente por las regiones interglandulares. Las estructuras superficiales del parásito que se unen a las células epiteliales no se conocen, si bien parecen intervenir dos tipos de receptores.

Penetración

Las causas por las que una ameba pasa de comensal a invasiva no se conocen bien, aunque ya se han señalado algunos factores que parecen influir. Para que se lleve a cabo la penetración, es necesario que se altere la mucosa, debido a que esta circunstancia ocasiona una disminución de su resistencia. La penetración se realiza por las zonas interglandulares del epitelio debido a la menor resistencia de estas áreas. Como consecuencia de la adherencia se lisan las células del epitelio, destrucción que es potenciada por la fagocitosis que realiza la propia ameba.

La penetración se realiza con la intervención de las enzimas líticas (proteasas, mucopolisacaridasas, etc.) y con ayuda del propio movimiento amebiano.

Una vez que los trofozoitos penetran en la mucosa, se forman en ella pequeños nódulos a consecuencia de la reacción inflamatoria tisular, que se ulceran en el centro. Los trofozoitos, que generalmente no penetran en la capa muscular del intestino, aunque sí en la *muscularis mucosae*, se extienden lateralmente por la submucosa. Se produce así un trastorno del riego sanguíneo de la mucosa, que la necrosa y ulcera. Las úlceras son de 1-3 cm de diámetro, se describen con aspecto de «botón de camisa» y están rodeadas de una zona de edema y reacción inflamatoria, donde abundan las células plasmáticas, eosinófilos y linfocitos. Los polinucleares son escasos, a menos que se asocie una infección bacteriana.

Las amebas sobreviven bien en las lesiones, debido fundamentalmente a que son resistentes a la acción del complemento y en parte a la fagocitosis.

Propagación

Los parásitos pueden emigrar a zonas adyacentes del intestino, provocar una intensa reacción inflamatoria y dar así lugar a un «ameboma».

En ocasiones, los trofozoitos entran en el torrente circulatorio y a través del sistema portal llegan a cualquier parte del organismo, especialmente al hígado, y dan origen a la llamada «amebiasis extraintestinal». No todas las amebas que alcanzan el hígado sobreviven. Las que lo hacen se multiplican por fisión binaria sin formación de elementos quísticos. Producen inicialmente una reacción inflamatoria con posterior necrosis tisular y formación de uno o varios abscesos, principalmente en el lóbulo hepático derecho. En las lesiones, los trofozoitos, al igual que ocurre a nivel intestinal, se localizan en la periferia.

Otras formas de amebiasis extraintestinal suelen tener su origen en los abscesos hepáticos que se abren directamente al pulmón, pleura o pericardio, o por vía hemática al pulmón, cerebro, etc.

La amebiasis cutánea se presenta normalmente en las proximidades del ano debido a la propagación de los parásitos a partir de úlceras rectales.

Manifestaciones clínicas

El cuadro clínico producido por *E. histolytica* se conoce tradicionalmente como amebiasis. Dado que este nombre se emplea también para designar los procesos originados por otras amebas, algunos prefieren el de amebiasis entamébica para hacer referencia a los originados por *E. histolytica* y el de amebiasis no entamébica para los producidos por *D. fragilis*, *E. nana*, *Naegleria* y *Acanthamoeba*.

La amebiasis por *E. histolytica* tiene dos formas clínicas: intestinal y extraintestinal; la segunda es una consecuencia de la primera, si bien en ocasiones aquélla puede haber pasado inadvertida. La infección asintomática es relativamente frecuente.

Amebiasis intestinal

La mayor parte de las infecciones por *E. histolytica* son asintomáticas, especialmente si se trata de personas bien nutridas y con buenos hábitos higiénicos. En los casos sintomáticos, la intensidad es muy variable y oscila de casos leves a otros de extraordinaria gravedad. El espectro clínico de la amebiasis intestinal es, por tanto, muy amplio, pues

existen formas asintomáticas, que se detectan únicamente por la eliminación de quistes por heces; formas de colitis no disentérica, incluso sin diarrea; cuadros de colitis disentérica; ameboma; perforación; megacolon tóxico; etc.

La forma más clásica, aunque no la más frecuente, es la disentérica, que se describe a continuación.

El comienzo del proceso es insidioso o brusco, según el grado de resistencia del huésped, número y virulencia de los parásitos, estado de nutrición, etc. Lo más habitual es que inicialmente muestre una sintomatología poco intensa, con anorexia, astenia, lengua saburral, dolor abdominal, alteraciones del tránsito del intestino y diarrea trivial no sanguinolenta. Estos síntomas reflejan simplemente la existencia de un proceso irritativo en el colon, y se trata de una fase inicial de la enfermedad que puede prolongarse varios meses.

Una vez que el colon está extensamente invadido, los síntomas se hacen mucho más intensos y la enfermedad entra en el período de estado. En esta fase, los síntomas más importantes son:

1. *Diarrea.* Es el más frecuente. La mayor parte de las veces es bastante inespecífica, con heces blandas o acuosas y malolientes, y en ocasiones con moco, pus y sangre en estrías (esputo disentérico). Lo normal es que existan 4-8 deposiciones diarias, pero a veces el número puede ser de 15-20, e incluso se muestran signos de deshidratación. Normalmente dura varias semanas, aunque puede alternar con fases de estreñimiento.
2. *Dolor abdominal.* Su intensidad es muy variable y oscila desde una sensación de pesadez abdominal hasta dolores de tipo cólico, que disminuyen con la defecación.
3. *Tenesmo.* Se presenta en los cuadros más graves, en forma de dolor de tipo constrictivo en la región anal, con necesidad imperiosa de defecar. No es infrecuente que exista, además, tenesmo vesical.

No suele haber fiebre, y si existe, es discreta, excepto en niños en quienes puede alcanzar 38 °C. El estado general del enfermo, que al principio es bueno, va deteriorándose, y se acentúa la anorexia con pérdida de peso. La palpación muestra un abdomen doloroso en todo el marco cólico, pero especialmente en recto y sigma. A veces existe una discreta hepatomegalia.

La evolución de la enfermedad depende de la existencia de sobreinfecciones bacterianas, estado previo del colon e implantación de un tratamiento correcto. Sin tratamiento, los episodios de diarrea se prolongan meses e incluso años y el cuadro puede pasar a un estado de cronicidad, en el que junto a la pérdida de peso los episodios alternan con fases de estreñimiento. Las formas fulminantes son raras y se presentan en personas tratadas con inmunosupresores.

Las complicaciones más importantes de la amebiasis intestinal son hemorragia; perforación, que se presenta en el 2-4 % de las personas y es el origen de peritonitis y de fistulaciones a la pared abdominal (amebiasis cutánea); oclusión intestinal; ameboma, lesión anular en el colon de tipo granulomatoso que provoca un engrosamiento fibroso de la pared intestinal (se presta a confusión con carcinoma de colon, tuberculosis y abscesos bacterianos); síndrome irritativo del intestino, que tiene un carácter crónico y se manifiesta con dolor y trastornos del tránsito intestinal, colitis ulcerativa posdisentérica y megacolon tóxico.

Amebiasis extraintestinal

Puede manifestarse al cabo de varios días, meses o años del cuadro intestinal. Aparece tanto en formas intestinales graves como leves; incluso un buen número de personas no manifiestan síntomas previos de amebiasis intestinal.

El cuadro más frecuente es la amebiasis hepática, que evoluciona en dos fases: fase de inflamación y fase de absceso. Se presenta con un curso lento e insidioso, acompañado de pérdida de peso, dolor en el hipocondrio derecho, fiebre no muy elevada, hepatomegalia ligera e ictericia discreta. El hígado es doloroso a la palpación y el diafragma aparece elevado. El absceso puede abrirse a la cavidad torácica o abdominal.

Otras formas de amebiasis extraintestinal son la amebiasis pulmonar, pleural y pericárdica, que generalmente se producen por rotura de un absceso hepático. La amebiasis cutánea generalmente es de localización perianal, por propagación a partir del recto. Menos frecuentes son las formas cutáneas, torácica o abdominal, por fistulación hacia fuera de las lesiones propias de la amebiasis intestinal o pleural. Los cuadros cutáneos se manifiestan como lesiones condilomatosas o ulcerativas, dolorosas, con exudado seroso o purulento.

Se han descrito formas urinarias, genitales y esplénicas, pero son excepcionales.

Diagnóstico

Amebiasis intestinal

El cuadro puede prestarse a confusión con gran número de procesos intestinales, especialmente con la disentería bacilar, si bien ésta presenta un inicio más agudo, un período de incubación corto, fiebre más elevada y carácter epidémico, las heces no muestran cristales de Charcot-Leyden, y la sangre no aparece en estrías y existe, por otro lado, mayor leucocitosis.

Datos de exploración e inespecíficos. La rectosigmoidoscopia revela la existencia de una mucosa intestinal edematosa, frágil y con úlceras en «botón de camisa».

Datos inespecíficos que pueden tener algún valor son la anemia, aumento de la VSG y discreta leucocitosis. No suele haber eosinofilia, al menos tan elevada como en otras parasitosis. Las heces contienen cristales de Charcot-Leyden (restos degenerativos de neutrófilos), que no son patognomónicos, dado que aparecen también en otras parasitosis intestinales y diátesis alérgicas.

Diagnóstico directo. *Muestras.* Tiene como objeto la identificación en muestras intestinales (heces, exudados obtenidos por rectosigmoidoscopia, material de biopsia o autopsia de la mucosa intestinal) de trofozoitos o quistes de *E. histolytica.*

Los trofozoitos son extraordinariamente lábiles, por lo que las muestras deben observarse antes de los 30-60 minutos de haber sido recogidas. Si esto no es posible, se recurrirá, en el caso de las heces, a su conservación a temperatura de 4 °C o mejor mediante fijadores como alcohol polivinílico (PVA) o mertiolato-formaldehído (MIF).

Los trofozoitos se encuentran en el exudado recogido por rectosigmoidoscopia y en las heces líquidas. Las heces conformadas no suelen contener trofozoitos, pero sí quistes en gran cantidad. Se deben recoger al menos tres muestras de heces en los casos en que los primeros resultados sean negativos; se evitará además que, en los 10-15 días que preceden a la recogida, el enfermo haya recibido antidiarreicos, laxantes o papilla de bario, pues dificultan la observación de los parásitos.

Observación microscópica. Puede realizarse en fresco, con ayuda de una pequeña cantidad de solución salina o emulsión en una solución de yodo y mediante tinción con hematoxilina férrica (trofozoitos). En ocasiones resulta útil emplear técnicas de concentración, especialmente cuando se trata de heces conformadas.

Los trofozoitos se hallan en los casos agudos y, si son de gran tamaño y contienen hematíes (trofozoitos hematófagos), revelan un proceso invasivo. La presencia de quistes, en ausencia de trofozoitos, es propia de los cuadros crónicos y portadores.

El examen microscópico resulta a veces difícil de interpretar, pues los parásitos pueden confundirse con restos alimenticios, polinucleares y macrófagos. La diferenciación con otras amebas del tubo intestinal deben realizarse de forma especial con *E. hartmanni* y *E. coli*. De la primera se diferencia por el tamaño y de la segunda porque los trofozoitos de ésta contienen abundantes vacuolas, movimiento anárquico, núcleo con cariosoma grueso y excéntrico, y cromatina periférica de distribución más irregular. Los quistes de *E. coli* tienen 8 núcleos y cuerpos cromatínicos de extremos más afilados.

Cultivos. Son útiles cuando la muestra contiene pocas amebas. *E. histolytica* es esencialmente anaerobia, aunque puede crecer en atmósferas con pequeñas proporciones de oxígeno. Los medios que se emplean son complejos, enriquecidos y normalmente difásicos.

Diagnóstico serológico. La búsqueda de anticuerpos sólo tiene valor en los casos invasivos con un 80-90 % de positividades. Las pruebas que se emplean son la hemaglutinación indirecta (títulos de 1/128 son significativos), aglutinación-látex, difusión en gel y ELISA.

Pruebas cutáneas. Inicialmente se empleaban extractos de *E. histolytica*. Apenas se usan pues se han mostrado de poca utilidad, a pesar de que algunos han señalado una eficacia del 80 % en formas agudas.

Amebiasis extraintestinal

La amebiasis hepática puede confundirse con abscesos bacterianos, neoplasias, quiste hidatídico e incluso hepatitis vírica. Los datos inespecíficos, como leucocitosis, VSG, pruebas funcionales hepáticas, son de poca utilidad. La búsqueda de elementos parasitarios en heces proporciona la mayor parte de las veces resultados negativos. Resulta más eficaz, aunque no exenta de riesgo, la aspiración de material del absceso para la investigación de trofozoitos.

El diagnóstico de la amebiasis extraintestinal, fundamentalmente hepática, es de tipo indirecto. La hemaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta son pruebas muy sensibles y específicas, positivas en el 95 % de los casos, a títulos de 1/128 la primera y de 1/50 la segunda. Otras pruebas válidas, pero menos eficaces y algunas menos estandarizadas, son la aglutinación-látex, difusión en gel, inmunoelectroforesis, contrainmunoelectroforesis y ELISA. Las pruebas serológicas sirven, además, como medio de control de la curación, tanto de las formas hepáticas como de las intestinales invasivas.

Tratamiento

En los cuadros graves es necesario el aporte de agua y electrólitos, asociado a una dieta blanda, rica en proteínas y vitaminas.

Las formas asintomáticas en áreas endémicas no precisan tratamiento específico, debido a la existencia de frecuentes reinfecciones. Las asintomáticas que se presentan en personas que residen en zonas no endémicas deben ser tratadas.

Los fármacos de elección para el tratamiento de los cuadros asintomáticos son la diyodohidroxiquina (5-7 diyodo-8-hidroxiquinolina) o el metronidazol. También son eficaces las tetraciclinas, asociadas o no a la diyodohidroxiquina, paromomicina y diloxanida.

En los cuadros intestinales sintomáticos, el fármaco de elección es el metronidazol, aplicado durante 5 días solo o durante 20 días asociado a la diyodohidroxiquina, pues se ha comprobado que esta última evita las recurrencias intestinales que en ocasiones se presentan cuando se emplea únicamente el metronidazol. Pueden asociarse tetraciclinas si se sospecha infección bacteriana secundaria. En las personas que no toleren el metronidazol, se empleará el hidroclorhidrato de emetina.

En el absceso hepático y otras formas intestinales, el fármaco de primera elección es el metronidazol, durante 10 días, y el de segunda, la cloroquina. Cuando el absceso hepático sea grande y muy doloroso y no pueda esperarse la resolución con el tratamiento específico, está justificada la aspiración del contenido, siempre que sea efectuada por una persona experta para evitar diseminaciones.

Epidemiología y profilaxis

La amebiasis entamébica es una afección cosmopolita de distribución mundial, aunque es más frecuente en zonas tropicales y subtropicales. Se presenta más en varones adultos y está muy influida por el nivel higiénico-sanitario de la población y medio ambiente. Es de declaración obligatoria nacional.

La fuente de infección es exclusivamente humana y está constituida fundamentalmente por personas asintomáticas o enfermos crónicos, que eliminan gran cantidad de quistes en heces. Los trofozoitos no son infectantes. Es una enfermedad que se adquiere por vía digestiva, aunque también se han descrito formas venéreas en homosexuales. El mecanismo de transmisión es principalmente indirecto a través del agua y alimentos, vegetales principalmente. La forma directa, por manos sucias y objetos recientemente contaminados, es muy importante en el ambiente familiar.

Las medidas de profilaxis irán encaminadas a mejorar el saneamiento ambiental e higiene individual, al tratamiento de personas infectadas, al examen de los contactos y sobre todo a la lucha contra los mecanismos de transmisión.

Los quistes resisten las concentraciones habituales de cloro y yodo del agua, por lo que es recomendable hervir ésta durante al menos 10 minutos o conseguir concentraciones de yodo libre de 6-7 ppm. Los alimentos vegetales serán sometidos a temperaturas de 80 °C durante 5 minutos o lavados con detergentes fuertes y posteriormente con ácido acético o vinagre durante 15 minutos.

La quimioprofilaxis, aunque se ha realizado en algunas ocasiones, no está justificada.

NAEGLERIA

Los protozoos del género *Naegleria* son «amebas de vida libre» en el suelo y principalmente en el agua. La única especie que en la actualidad se ha descrito como patógena es *N. fowleri*, responsable de la meningoencefalitis amebiana primaria, cuadro extraordinariamente grave, de curso agudo y mortal en pocos días. Desde 1965 hasta ahora se han descrito un centenar de casos.

Biología

N. fowleri vive en el fondo de lagos, charcas y aguas estancadas, habitualmente en zonas de clima templado. Presenta tres formas de vida:

Trofozoito o forma ameboide

Tiene un tamaño de 12-36 µm con un pseudópodo único y romo. El núcleo, que posee un gran cariosoma de localización central, tiene aspecto vesicular. El trofozoito es la forma infectante, dado que es la única que se encuentra en el LCR y tejidos afectados (SNC).

Quiste

Es redondeado, de superficie lisa y mide de 7-10 µm de diámetro. No se ha detectado en LCR ni en lesiones humanas.

Forma flagelada

Es oval o alargada y está dotada de un par de flagelos, de localización anterior. Se trata de un elemento transitorio, que no se observa *in vivo*, sino *in vitro* por transformación del trofozoito.

Acción patógena

La infección se produce principalmente en verano, por contacto con aguas que contienen el parásito. Se presenta en personas jóvenes que nadan o bucean intensamente, sin que parezca existir otro tipo de factores predisponentes.

N. fowleri penetra por la mucosa nasal y, siguiendo los nervios olfatorios, atraviesa la lámina cribosa hasta alcanzar la base del cerebro, donde se multiplica. El cuadro es una inflamación supurada aguda que afecta al cerebro, cerebelo e incluso medula espinal, con formación de un exudado purulento, edema y hemorragias que semejan una menigoencefalitis bacteriana. Es frecuente la formación de microabcesos, trombosis y necrosis focales. En el exudado y lesiones pueden detectarse fácilmente los trofozoitos, pero no se encuentran quistes.

El cuadro clínico se conoce como meningoencefalitis amebiana primaria, para diferenciarlo del producido por *Acanthamoeba* que parece tener su origen en una propagación hemática, a partir de un foco situado fuera del sistema nervioso.

El período de incubación normalmente no es superior a 1 semana. El cuadro se inicia bruscamente y semeja al principio un proceso gripal o de las vías respiratorias altas, con cefalea frontal intensa, fiebre y obstrucción nasal. A los 2-3 días aparecen los síntomas típicos de menigoencefalitis aguda sin signos de afectación neurológica. Debido al intenso edema, el paciente entra rápidamente en coma y muere por fallo cardiorrespiratorio.

En sangre existe una leucocitosis elevada con predominio de polinucleares, y el LCR presenta las mismas características que en las meningitis bacterianas.

Diagnóstico

Es de tipo directo. Los trofozoitos pueden detectarse en las áreas cerebrales afectadas y en el LCR.

Examen microscópico

El LCR puede observarse en fresco y mejor con microscopio de contraste de fases, lo que revela la existencia de abundantes trofozoitos móviles. No debe centrifugarse intensamente ni refrigerarse, pues se provoca una disminución de la movilidad de las amebas. Si la observación no se realiza inmediatamente, se procederá a conservarlo en alcohol polivinílico (PVA). Las tinciones tricrómicas también son útiles.

Cultivos

El LCR se inocula en un medio de agar nutritivo junto a bacterias coliformes y se incuba a 37 °C, en atmósfera de aerobiosis. A las 24-48 horas pueden ya detectarse los trofozoitos o quistes, examinando directamente la placa con objetivo 10 ×.

La diferenciación con amebas del género *Acanthamoeba* se consigue inundando la placa con agua destilada. En estas condiciones, los trofozoitos de *N. fowleri* se transforman transitoriamente en elementos flagelados.

Inoculación experimental

El LCR o material infectado se inocula en ratones por vía intracerebral para buscar posteriormente en éstos los trofozoitos.

Tratamiento

Se han empleado, sin éxito, sulfamidas, emetina, metronidazol y varios antibióticos. El fármaco de elección es la anfo-

tericina B por vía intravenosa e intratecal. Puede asociarse miconazol. Desgraciadamente se han descrito muy pocas supervivencias.

ACANTHAMOEBA

Son igualmente amebas de vida libre en el suelo y agua. Las especies patógenas humanas descritas son *A. castellani, A. culbertsoni, A. astronyxis* y *A. polyphage.*

El cuadro que producen es la meningoencefalitis amebiana, de la que se han publicado poco mas de una docena de casos. También se han descrito cuadros oculares, producidos fundamentalmente por *A. polyphage.*

La meningoencefalisis amebiana tiene su origen a partir de un foco primario extracerebral y es de curso subagudo o crónico.

Biología

El hábitat de las especies del género *Acanthamoeba* es idéntico al señalado para *Naegleria.* No poseen forma flagelada, sino tan sólo de trofozoito y quiste.

Trofozoito

Es ligeramente mayor que el de *Naegleria* (15-50 μm) y posee igualmente un núcleo vesicular, con un gran cariosoma central, pero sus pseudópodos son más afilados.

Quiste

Se encuentra en las lesiones humanas, es redondo, mide 18-28 μm y tiene la superficie rugosa.

Acción patógena

La meningoencefalitis amebiana se presenta de manera especial en personas inmunodeprimidas y tiene unas características histológicas de tipo granulomatoso y evolución subaguda o crónica.

Las amebas llegan al cerebro por vía hematógena, probablemente desde las vías respiratorias altas, conjuntiva o piel y originan una inflamación granulomatosa con poco edema, escasa supuración y lesiones más localizadas. En las lesiones, además de los trofozoitos, existen quistes, pero ambas formaciones son difíciles de detectar. Las lesiones granulomatosas aparecen no sólo en el cerebro, sino también en la piel, riñones, páncreas, ojos y glándulas suprarrenales. El proceso no es fulminante y tiene un curso subagudo o crónico. Responde bien al tratamiento con sulfadiazina.

Los cuadros oculares parecen producirse directamente con agua que contenga parásitos y lo más frecuente es que se trate de una queratitis ulcerativa. En ocasiones, la conjuntiva y úvea también están afectadas.

Diagnóstico

El LCR contiene linfocitos y en él pueden detectarse trofozoitos y quistes (diferencia con *Naegleria*). El examen microscópico del LCR, granulomas y lesiones tisulares debe hacerse por inmunofluorescencia o tinción con inmunoperoxidasa.

Tratamiento

La anfotericina B no es eficaz. Aunque apenas se dispone de datos, el tratamiento más adecuado parece la asociación de algunos de estos fármacos: sulfamidas, pentamidina, polimixina B, paromomicina, 5-fluorocitosina y miconazol.

Ciliophora

BALANTIDIUM COLI

El género *Balantidium* comprende varias especies patógenas para los animales, de las que *B. coli* es la única patógena para el hombre.

La balantidiasis o balantidiosis es una afección de distribución mundial, de mayor incidencia en zonas tropicales y subtropicales. Los primeros casos humanos fueron descritos por Malmsten, en 1857.

Morfología

B. coli tiene dos formas de vida: trofozoito y quiste; este último es la forma infectante, ya que el trofozoito se destruye rápidamente en el medio ambiente.

El trofozoito (fig. 74-3) es de morfología oval y tamaño muy variable. Sus dimensiones oscilan ente 40 y 150 μm de longitud y 30 y 100 μm de anchura, pero lo más frecuente es que el tamaño se aproxime a 60-45 μm. Algunos afirman que existen dos poblaciones de trofozoitos, una grande y otra pequeña.

Su característica más importante es que superficialmente se halla recubierto de una capa de cilios de pequeña longitud, que tienen una estructura similar a la de los flagelos y parten de un kinetosoma.

Posee dos núcleos, uno grande o macronúcleo, de aspecto arriñonado o en V, y otro pequeño o micronúcleo, redondeado, en ocasiones no detectable, situado próximo a la concavidad del macronúcleo.

El citoplasma suele ser granuloso y posee varias vacuolas alimenticias y dos vacuolas contráctiles. En el polo anterior se encuentra el citostoma, recubierto de cilios, y en el posterior, el orificio excretor o citopigio.

El trofozoito se multiplica por fisión binaria y quizá también por conjugación sexual. Se encuentra en la luz intestinal y en el interior de la mucosa y submucosa de la región terminal del íleon, ciego, sigma y recto.

El quiste tiene un tamaño de 45-65 μm y una pared doble y resistente. Es esférico u oval. Como ya se ha señalado,

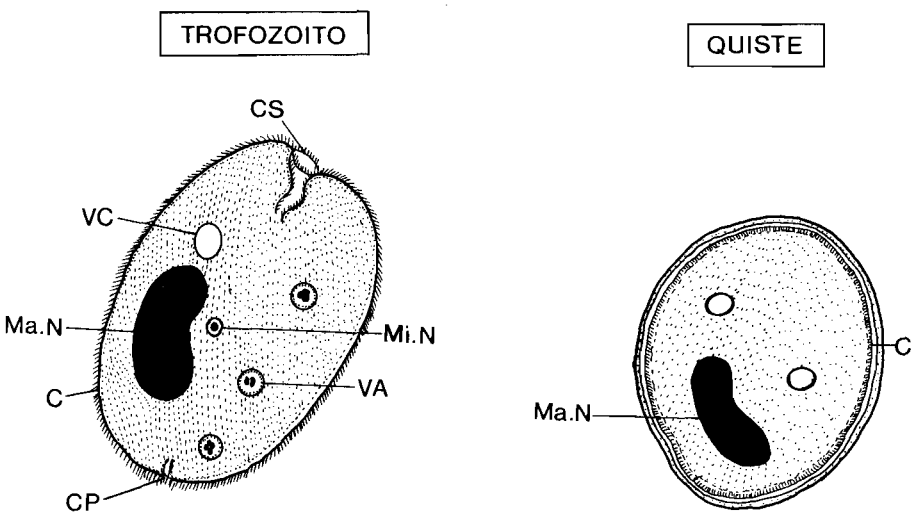


Fig. 74-3. Trofozoito y quiste de *B. coli*. CS, Citostoma; MaN, macronúcleo; MiN, micronúcleo; VA, vacuola alimenticia; VC, vacuola contráctil; C, cilios; CP, citopigio.

es la forma infectante y se origina a partir del trofozoito. El proceso de enquistamiento se realiza normalmente en el intestino, pero puede tener lugar en el medio exterior.

Los quistes jóvenes son ciliados, y estos cilios están situados por dentro de la pared. Posteriormente, a medida que el quiste madura, los cilios, el citostoma y, a veces, el micronúcleo desaparecen. El quiste de *B. coli*, a diferencia del de *E. histolytica*, no se divide.

Ciclo biológico

Es similar al de *E. histolytica*, aunque sin división del quiste (fig. 74-4).

Los quistes maduros penetran por vía digestiva, vehiculados por el agua o alimentos. En el estómago comienza a disolverse la pared del quiste, proceso que se completa en el intestino delgado dejando en libertad el trofozoito (trofozoi-

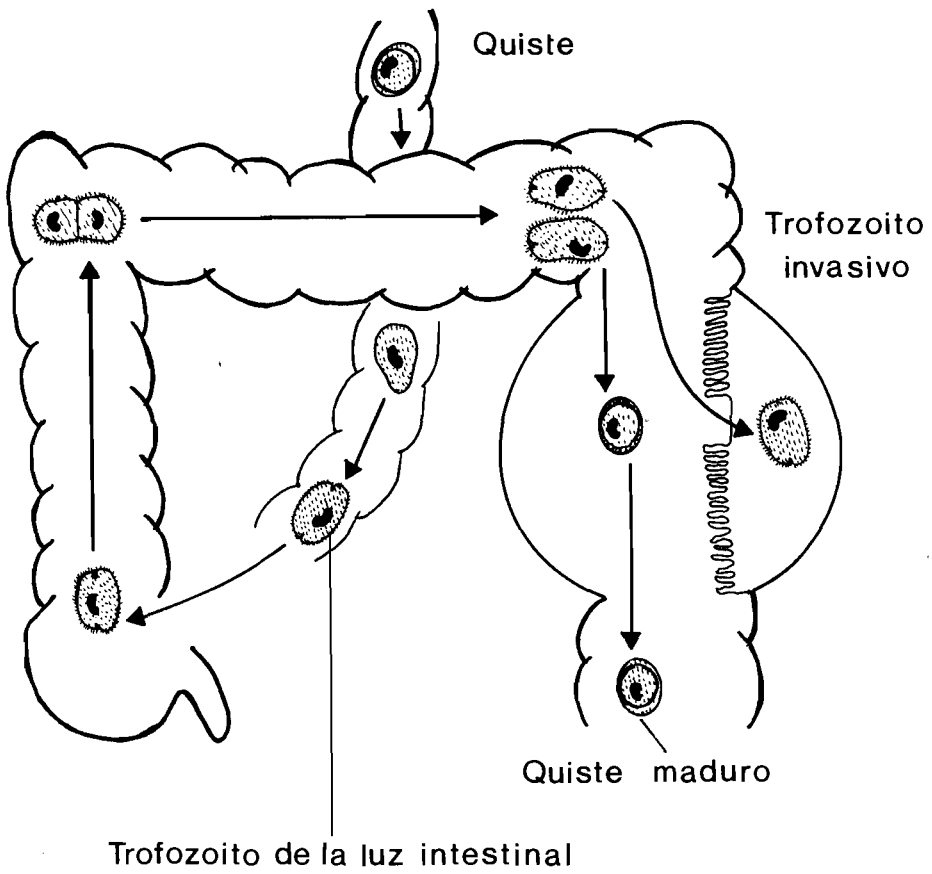


Fig. 74-4. Ciclo biológico de *B. coli*.

to de la luz intestinal). Los trofozoitos emigran al intestino grueso, donde se multiplican y se comportan normalmente de forma comensal.

Posteriormente, los trofozoitos pueden invadir la mucosa intestinal, incluso mucosa sana, a favor del movimiento y por secreción de hialuronidasa. El proceso de invasión tiene lugar en el colon descendente, y fundamentalmente región rectosigmoidea. Estos trofozoitos (trofozoitos invasivos) se multiplican, no se enquistan, atraviesan la *muscularis mucosae* y alcanzan la submucosa, originando ulceraciones intestinales de aspecto crateriforme.

En ocasiones se producen perforaciones intestinales, pero son raras las propagaciones a distancia por vía hemática al hígado, pulmón y corazón.

Patogenia

La especie humana parece poseer un alto grado de resistencia natural. Los tres principales determinantes de patogenicidad son: la plasticidad del trofozoito; los cilios, que proporcionan un movimiento de rotación, y la hialuronidasa, secretada por el trofozoito.

Estos factores posibilitan la penetración en la pared intestinal y el llegar a la submucosa, donde quedan albergados.

La anatomía patológica del cuadro es similar a la de la amebiasis. Existen múltiples ulceraciones de borde elevado y fondo necrótico con hematíes, neutrófilos y fibrina. Las úlceras son más redondeadas y de boca más amplia que las producidas por *E. histolytica*.

Son factores predisponentes por parte del huésped la aclorhidria, malnutrición, alcoholismo, enfermedades debilitantes, edad avanzada e infecciones bacterianas o parasitarias, especialmente las debidas a *Trichuris trichiura*.

Manifestaciones clínicas

El aspecto clínico de la balantidiasis es muy polimorfo, pues va desde las formas asintomáticas a la disentería aguda, similar a la amebiana, pasando por cuadros de colitis leve con heces blandas o acuosas con olor a porquerizas.

Se distinguen tres formas clínicas:

Fulminante

Es excepcional. Se presenta en personas débiles y evoluciona en 4-6 días con comienzo brusco a base de 15-20 deposiciones diarias con moco y gran cantidad de sangre. Las pérdidas hemáticas intensas son la principal causa de muerte.

Aguda

Se caracteriza por diarrea blanda o acuosa, con moco, sangre y pus. Existen, además, náuseas, vómitos, dolor abdominal y a veces deshidratación.

Crónica

Es la más frecuente. El dato inicial más importante es la diarrea (con moco, pero generalmente sin pus y casi nunca sangre), que alterna con episodios de estreñimiento. Progresivamente, el enfermo adelgaza y aparece anémico.

Se han descrito también cuadros de apendicitis, peritonitis, vaginitis, infección urinaria, miocarditis subaguda y absceso hepático.

Diagnóstico

No existen pruebas serológicas útiles, por lo que el diagnóstico es de tipo directo. Son muestras válidas las heces y el material de las lesiones obtenido por rectosigmoidoscopia. En el caso de las heces deberán recogerse varias muestras, ya que la eliminación de parásitos es variable e intermitente.

Las heces contienen siempre más trofozoitos que quistes, especialmente si se trata de heces blandas, y como aquéllos sólo sobreviven en ellas unas 6 horas, el estudio deberá realizarse con prontitud.

La observación microscópica de los parásitos puede hacerse en fresco o mediante tinciones con hematoxilina férrica o tricrómicas. Si se trata de secciones de tejidos, la tinción más adecuada es la de hematoxilina-eosina.

Cuando el estudio microscópico se efectúa en fresco, el diagnóstico es bastante sencillo, pues *B. coli* es el único protozoo ciliado que parasita al hombre.

Aunque puede cultivarse en forma de trofozoito, en medios no celulares de los que se emplean para los protozoos no suele ser necesario recurrir a este procedimiento.

Tratamiento

Deben tratarse tanto las formas sintomáticas como las asintomáticas, pues en estas últimas puede observarse un debilitamiento progresivo.

El fármaco de elección es la oxitetraciclina administrada durante 10 días por vía oral. La alternativa es la diyodohidroxiquina durante 20 días, igualmente por vía oral. En el caso de utilizar esta última, no hay que olvidar que tratamiento más prolongados pueden provocar neuritis óptica.

También parecen ser eficaces la ampicilina, paromomicina y metronidazol.

Epidemiología y profilaxis

Aunque la enfermedad puede transmitirse de hombre a hombre, la balantidiasis es fundamentalmente una zoonosis. *B. coli* se ha aislado del cerdo, rata, cobayo y mono, pero sólo parecen ser reservorios importantes el cerdo y, en ocasiones, las ratas.

El mecanismo de transmisión y las medidas profilácticas son similares a las señaladas para la disentería amebiana.

BIBLIOGRAFIA

Beck, J. W., y Davies, J. E.: The amebas (Sarcodina). En Medical Parasitology, 3.ª ed., 9-41. C. V. Mosby, St. Louis, 1981.

Brown, H. W., y Neva, F. A.: Intestinal and luminal protozoa. En Basic Clinical Parasitology, 5.ª ed., 23-54. Appleton-Century-Crofts, Norwalk, 1983.

Juniper, K.: Amoebiasis. Clin. Gastroenterol., 7, 3-29, 1978.

Katz, M.; Despommier, D. D., y Gwadz, R. W.: *Entamoeba histolyti-*

ca. Balantidium coli. En Parasitic Diseases, 133-143. Springer, New York, 1982.
Knight, R.: Giardiasis, isosporiasis and balantidiasis. Clin. Gastroenterol., 7, 31-47, 1978.
Knight, R.: Protozoan parasites. En Parasitic Disease in Man, 12-44. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1982.
Martínez-Palomo, A.: The Biology of *Entamoeba histolytica.* Research Studies, Chichester, 1982.
Sepúlveda, B.: Amebiasis: Host-pathogen biology. Rev. Infect. Dis., 4, 836-842, 1982.
Sun, T.: Entamebic amebiasis. Nonentamebic amebiasis. Balantidiasis. En Pathology and Clinical Features of Parasitic Diseases, 7-20 y 95-97. Masson, New York, 1982.
Wessel, W. B.; Hubbard, J.; Martínez, A. J.; Willaert, E., y Stevens, A. R.: Amebic meningoencephalitis-Texas. Morb. Mort. Wkly. Rep., 29, 117-119, 1980.

Capítulo 75

Mastigophora

José Angel García-Rodríguez

PROTOZOOS FLAGELADOS

Los protozoos flagelados se incluyen en el *subphylum Mastigophora*. Desde un punto de vista práctico, los que presentan interés clínico pueden clasificarse en:

1. Flagelados potenciales parásitos de sangre y tejidos *(hemoflagelados)*: Incluyen los géneros *Leishmania* y *Trypanosoma* (tabla 75-1).

2. Flagelados intestinales: Normalmente tienen estado de *trofozoito* y de *quiste*. El único género con significación clínica es el género *Giardia* y, en concreto, la especie *G. intestinalis*.

3. Flagelados atriales: Parásitos de la boca, uretra y vagina. Tienen fase de trofozoito, pero no de quiste. En este grupo se encuentra el género *Trichomonas*, del que destaca, por su interés patógeno, la especie *T. vaginalis*.

Tabla 75-1. Características de los protozoos hemoflagelados

		Fases del desarrollo			
	Vector	Amastigote	Promastigote	Epimastigote	Trypomastigote
Leishmania	*Phlebotomus* *Lutzomya*	Huésped	Cultivos y vector	–	–
T. gambiense y *T. rhodesiense*	*Glossina*	–	–	Cultivos y vector	Huésped y vector
T. cruzi	*Triatoma* *Rhodnius* *Panstrongylus*	Huésped	Huésped	Huésped, cultivos y vector	Huésped y vector

Hemoflagelados

Son protozoos flagelados, parásitos de sangre y tejidos, que poseen como huésped intermediario un artrópodo vector. Los dos géneros de importancia médica son *Leishmania* y *Trypanosoma*. Adoptan diversas formas en el transcurso de su ciclo biológico (fig. 75-1). Todas ellas se dividen por fisión binaria.

1.ª Fase de amastigote (Leishmania)

Es un elemento redondo u oval, inmóvil y de disposición intracelular en los tejidos del huésped, en concreto en las células del SRE (monocitos, macrófagos, histiocitos tisulares), piel, bazo, hígado, medula ósea y ganglios linfáticos. En algunas ocasiones se encuentra también en el interior de leucocitos polinucleares. Su tamaño oscila entre 2 y 5 µm.

Consta de un núcleo excéntrico con nucléolo y de un kinetoplasto. Este último se compone del blefaroplasto y del corpúsculo parabasal. Normalmente, también se observa un axonema o rizoplasto que emerge del blefaroplasto. Cuando se tiñe por el método de Giemsa, el núcleo y kinetoplasto aparecen coloreados de un color rojo oscuro a rojo púrpura y el protopasma se colorea de azul.

2.ª Fase de promastigote (Leptomonas)

Tiene morfología alargada y un tamaño de 10-25 × 2-5 µm. Se encuentra tanto en el tubo digestivo del artrópodo vector como en la fase líquida de los medios de cultivo. Se diferencia del anterior en que posee un flagelo libre, que parte del axonema y se proyecta fuera del parásito.

3.ª Fase de epimastigote (Crithidia)

Tiene una morfología similar a la anterior, aunque es ligeramente más alargada. Esta forma se encuentra en las glándulas salivales o en el intestino del artrópodo vector y en los cultivos. Su kinetoplasto está próximo al núcleo. Presenta una discreta membrana ondulante, que arranca del corpúsculo parabasal y aparece en el polo anterior como flagelo libre.

4.ª Fase de trypomastigote (Trypanosoma)

Posee un tamaño de 15-30 × 2-5 μm y se encuentra en el artrópodo vector, sangre, LCR y linfáticos de mamíferos. Su kinetoplasto está en el polo posterior y la membrana ondulante es muy evidente. Contiene abundantes gránulos de volutina.

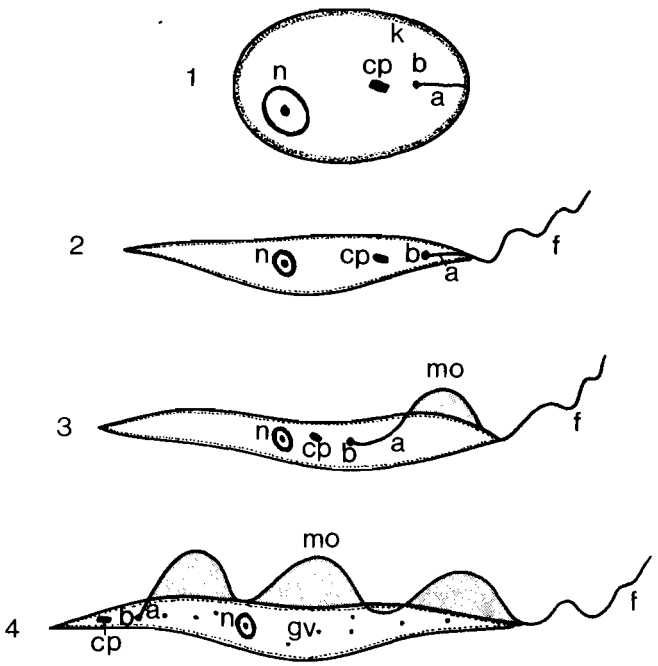


Fig. 75-1. Fases de desarrollo de los hemoflagelados. n, Núcleo; k, kinetoplasto; cp, corpúsculo parabasal; b, blefaroplasto; a, axonema; f, flagelo; mo, membrana ondulante; gv, gránulos de volutina.

Leishmania

En el género *Leishmania* están incluidos un grupo de organismos unicelulares, parásitos intracelulares en fase de amastigote y parásitos de varios mamíferos. En general aparecen en cánidos y roedores, y se transmiten al hombre mediante mosquitos de los géneros *Phlebotomus* o *Lutzomya*, en los cuales adoptan la forma de promastigote. Estos artrópodos se infectan al adquirir amastigotes de la piel o circulantes en la sangre del reservorio.

Comprende varias especies patógenas para el hombre y presenta un cuadro clínico y una distribución geográfica diferentes. Las más importantes son las siguientes:

1. *Especies viscerotropas: L. donovani,* agente etiológico de la leishmaniosis visceral o Kala-azar. Para algunos se trataría de un complejo, *L. donovani complex,* con tres especies: *L. donovani, L. infantum* y *L. chagasi.*

2. *Especies dermotropas:* Constituyen un grupo muy numeroso en el que se separan:

a) L. tropica: Responsable de la leishmaniosis cutánea o «botón de Oriente». Igual que en el caso anterior, también se recoge la existencia de *L. tropica complex* que incluye *L. tropica, L. major* y *L. aethiopica.*

b) L. braziliensis complex: Produce la leishmaniosis cutáneo-mucosa, pues, además de ser dermotropa, tiene apetencia por las mucosas de la nariz, boca y faringe. Este complejo está mejor definido y comprende: *L. braziliensis braziliensis, L. braziliensis panamensis, L. braziliensis guyanensis,* etc.

c) L. mexicana complex: Las especies de este complejo tienen el mismo tropismo que las del complejo anterior y producen, por tanto, leishmaniosis cutáneo-mucosa. Incluye: *L. mexicana mexicana, L. mexicana amazonensis, L. mexicana pifanoi,* etc.

d) Especies de difícil inclusión en alguno de los complejos anteriores: *L. peruviana* y *L. garnhami.*

Ciclo biológico

Las leishmanias pueden adoptar forma de amastigote (tejidos del huésped) o de promastigote (artrópodo vector y cultivos). En los tejidos del huésped (hombre, cánidos, roedores), las leishmanias se encuentran en forma de amastigote (cuerpos de Leishman-Donovan) y son captados por los macrófagos de piel y tejido subcutáneo, donde se multiplican por fisión binaria hasta que provocan el estallido celular y pasan a parasitar nuevas células. En los mosquitos del género *Phlebotomus* (mosca de la arena) o *Lutzomya* se encuentran en forma de promastigote. La hembra de estos artrópodos, al tomar sangre de algunos de los huéspedes antes citados, ingiere amastigotes cutáneos o sanguíneos. En su tubo digestivo se transforman en promastigotes que se dividen por fisión binaria y emigran desde el intestino a la faringe y trompa del mosquito. Cuando pican de nuevo, inyectan los promastigotes en la piel de los mamíferos, que son captados por los macrófagos de piel y tejido celular subcutáneo y alcanzan, más tarde en el caso de *L. donovani,* los macrófagos de bazo, hígado, medula ósea y ganglios linfáticos (fig. 75-2).

L. DONOVANI

Descubierta por Leishman, en 1900, y posteriormente por Donovan, en 1903, es el agente etiológico de la leishmaniosis visceral o kala-azar, también llamada esplenomegalia

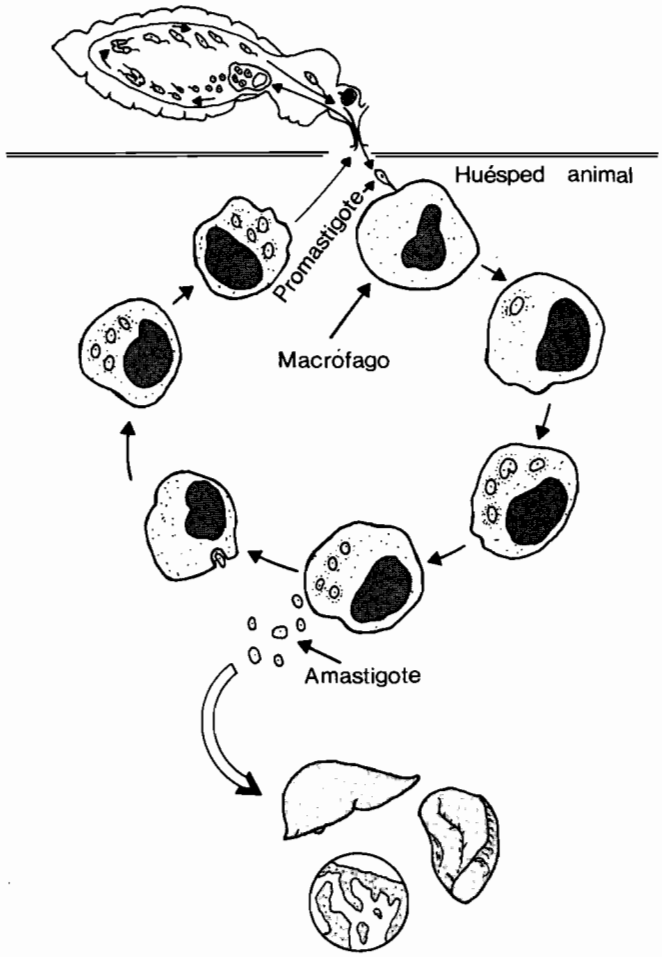


Fig. 75-2. Ciclo biológico de *L. donovani.*

tropical, esplenomegalia infantil, fiebre dum-dum, etc. Se caracteriza por fiebre, hepatoesplenomegalia, adelgazamiento, anemia y leucopenia.

L. donovani es una especie viscerotropa, que se encuentra en fase de amastigote, en las células del SRE del hombre, cánidos y roedores, y en fase de promastigote, en mosquitos de los géneros *Phlebotomus* o *Lutzomya.*

Patogénesis

El artrópodo vector inocula promastigotes que son captados por los macrófagos de piel y tejido subcutáneo, donde se transforman en amastigotes, que se dividen por fisión binaria longitudinal. Más tarde se produce la rotura de estas células y pasan a parasitar otros macrófagos próximos. Vehiculados por leucocitos polinucleares y monocitos llegan a las vísceras y lugares donde existe tejido reticuloendotelial. El hecho primordial es la parasitación y rotura de células de SRE, con la consiguiente liberación de nuevos parásitos y restos celulares. Los tres hechos más importantes y que explican la acción patógena son:

1. Presencia de elementos extraños en la circulación, lo que origina fiebre y un estado de toxemia y caquexia (adelgazamiento).

2. Parasitación de macrófagos y células del sistema reticuloendotelial a nivel de:

a) Piel: Máculas, pápulas, rash nodular y migración de parásitos postratamiento (leishmaniosis postratamiento).

b) Bazo: Congestión, hiperplasia (esplenomegalia), hiperesplenismo y fibrosis posterior.

c) Hígado: Congestión e hiperplasia de las células de Kuppfer (hepatomegalia), atrofia de las células hepáticas y fibrosis.

d) Ganglios linfáticos: Hipertrofia (adenopatías manifiestas).

e) Medula ósea: Implantación de gran cantidad de parásitos, aparición de áreas de degeneración medular y sustitución por tejido fibroso (anemia, leucopenia y trombocitopenia). La anemia es también de causa autoinmune, producida por el hiperesplenismo, y puede originar una miocarditis degenerativa con depósito de hierro en la piel (pigmentación). La leucopenia acompañante hace que estos pacientes sean más sensibles a las infecciones bacterianas o víricas. La trombocitopenia es la responsable de las petequias, epistaxis e incluso melenas.

f) Vellosidades intestinales: Lesiones importantes que pueden dar lugar a ulceraciones con trastornos intestinales, malabsorción y adelgazamiento.

g) Endotelio capilar: Al ser parasitadas las células endoteliales, se produce una alteración de los vasos con coagulación intravascular, hemorragias, etc.

3. Liberación de antígenos parasitarios y formación de IgM e IgG, con producción de complejos Ag-Ac, que se depositan en los capilares del glomérulo renal y producen una glomerulonefritis (albuminuria).

La inmunidad que es de tipo celular es asimismo de larga duración, una vez resuelto el cuadro.

Manifestaciones clínicas

Aunque tradicionalmente se distinguen varias formas clínicas en razón del área geográfica, todas tienen una sintomatología similar y traducen una afectación importante del SRE.

Clásicamente se distingue una leishmaniosis visceral de tipo mediterráneo (kala-azar mediterráneo, chino y sudamericano) y un kala-azar de tipo indio (kala-azar de la India y del este y centro de Africa). En la leishmaniosis de tipo mediterráneo suelen diferenciarse dos formas, infantil y del adulto. Esta última presenta normalmente una sintomatología menos florida y en ocasiones se manifiesta sólo por un cuadro asténico y febricular con pérdida de peso. La enfermedad tiene un período de incubación que oscila entre 2 semanas y varios meses, aunque se han descrito casos de varios años.

El comienzo del cuadro es poco característico. A veces, los síntomas van precedidos de una lesión cutánea en el sitio de la picadura, en ocasiones con aspecto de epitelioma, pero en la mayor parte de las veces pasa inadvertida. Aunque la enfermedad puede comenzar de forma brusca con fiebre alta, incluso con escalofríos que semejan paludismo, diarrea de aspecto disentérico, epistaxis y tos seca de tipo neumónico, lo más frecuente es que lo haga de manera insi-

diosa con fiebre poco alta, trastornos gastrointestinales, anorexia, mialgias y adelgazamiento.

Más tarde, la fiebre, que puede ser continua o irregular, se eleva, se acentúan los trastornos gastrointestinales (estreñimiento o diarrea, a veces vómitos), la piel aparece seca y pálida, y aumenta el tamaño del abdomen por la hepatoesplenomegalia. Son frecuentes igualmente equimosis, petequias, epistaxis y edema.

En fases más avanzadas, la piel adquiere una coloración parda, sobre todo en manos, brazos y alrededor de la boca, y se manifiestan claramente los signos patognomónicos de la enfermedad:

1. Esplenomegalia intensa, blanda, dolorosa o no. Normalmente sobrepasa el ombligo.
2. Hepatomegalia acentuada, de superficie lisa y consistencia blanda.
3. Adenopatías, normalmente de localización inguinal o femoral (formas africanas) o cervical (kala-azar mediterráneo).
4. Adelgazamiento.

No suele existir ascitis, pero la ictericia hace su aparición en el 5-10 % de los casos (casos graves).

En los cuadros agudos, la muerte puede acontecer en unas semanas por infección bacteriana secundaria, hemorragia o anemia, en tanto que, en los crónicos, aquélla tarda varios años en producirse. La curación espontánea, sin tratamiento, es excepcional.

El kala-azar postratamiento o dérmico consiste en la aparición, después de realizar un tratamiento eficaz, de áreas cutáneas pigmentadas, sobre las que posteriormente se desarrollan masas nodulares que contienen parásitos.

Diagnóstico

Los datos inespecíficos más importantes son la intensa anemia normocítica y normocrómica, con leucopenia y trombocitopenia. Existe una elevada concentración de IgG (cifras de 4 g/ml), hiperglobulinemia, disminución de la albúmina sanguínea y a veces proteinuria.

Directo

Puede realizarse por observación microscópica, cultivos e inoculación experimental.

1. Muestras: La medula ósea, obtenida por aspiración en la cresta ilíaca o esternón, es el material de elección, ya que proporciona un 90 % de positividades. La punción esplénica ofrece resultados similares, pero es extraordinariamente peligrosa y sólo podrá realizarse si el tiempo de protrombina es normal. Son también muestras válidas la biopsia hepática y la de ganglios linfáticos, con las que se obtienen resultados satisfactorios en el 70 y 60 % de los casos, respectivamente. Cuando existe una diseminación hematógena intensa, las leishmanias pueden ser visualizadas en el interior de leucocitos polinucleares y monocitos de sangre periférica. El material cutáneo o de mucosa nasal es poco apropiado, excepto en el kala-azar de la India.
2. Examen microscópico: Por tinciones de Giemsa, Wright, etc., las leishmanias aparecen en forma de amastigotes, aisladas o en racimos, la mayor parte de ellas situadas intracelularmente.
3. Cultivos: Los más importantes son el de Scheider, el de Chang y sobre todo el medio NNN (Novy-Mac Neal-Nicolle). Se trata de un medio bifásico de agar sangre de conejo, que incubado a 22 °C muestra a los 8-10 días abundantes promastigotes en el agua de condensación. No debe desecharse como negativo antes de las 4 semanas.
4. Inoculación experimental: Se emplea el hámster que por vía intraperitoneal es muy susceptible. Los amastigotes en las células del SRE aparecen al cabo de 1 mes o incluso después.

Indirecto

No es muy empleado, pues a veces existen reacciones cruzadas con tripanosomiasis, paludismo e infecciones por micobacterias. Las pruebas más utilizadas son:

1. RFC con antígeno de bacterias ácido-alcohol-resistentes (bacilo de Kedrowsky). Los anticuerpos que detecta son de aparición precoz y sólo se encuentran en la fase activa.
2. IFI con cultivos de *L. donovani*. Es más sensible, pero menos específica que la anterior.
3. La técnica ELISA y la contrainmunoelectroforesis son las que mejores resultados proporcionan.

Reacción de Montenegro

Es una prueba cutánea de hipersensibilidad celular, que se realiza por vía intradérmica con una suspensión de promastigotes en solución salina fenolada al 0,5 %, obtenidos por cultivo. A dosis de 0,1-0,2 ml, en los casos positivos se produce una induración de más de 5 mm a las 24-48 horas. Esta prueba, que puede emplearse en todas las formas de leishmaniosis, es negativa en la fase aguda.

Tratamiento

Medidas generales

Comprenden hospitalización y el aporte dietético de proteínas, vitaminas e hierro. A veces puede ser necesario recurrir a las transfusiones y antibióticos (infecciones bacterianas secundarias). El empleo de corticoides en general no se acepta; en todo caso quedaría únicamente limitado a casos extraordinariamente tóxicos. La esplenectomía, tema controvertido, estaría indicada en casos de hiperesplenismo intenso, con aparición de resistencia a los compuestos de antimonio por secuestro esplénico de parásitos.

Tratamiento específico

Los fármacos que pueden emplearse son los antimoniales pentavalentes, diamidinas aromáticas y la anfotericina B.

Antimoniales pentavalentes. Son los fármacos de elección, al menos para la fase inicial. El más empleado es el gluconato de antimonio y sodio (Pentostan, Solustibosan) por vía IM o IV, pues es el menos tóxico. En general son suficientes

6-8 días en el kala-azar de la India, pero se necesitan 4 semanas en los otros tipos. Otros antimoniales útiles son el antimonio de N-metilglucamina (Glucantine) y la urea con ácido para-amino-fenil-antimónico (urea-estibamina). Los antimoniales han conseguido rebajar las cifras de mortalidad hasta un 3-5 %.

Diamidinas aromáticas. Son más activas que los antimoniales, pero más tóxicas, razón por la cual sólo se emplean para tratar aquellos cuadros en los que existe una resistencia a los fármacos anteriores. Se emplea la pentamidina por vía IM en días alternos durante 15-30 días. Algunos prefieren realizar el tratamiento inicialmente con gluconato de antimonio y sodio y posteriormente continuar con pentamidina.

Anfotericina B. Debido a su elevada toxicidad, se reserva para aquellos casos resistentes a los antimoniales y pentamidina. La dosis total no ha de ser superior a 2 g.

Epidemiología

La leishmaniosis visceral es básicamente una zoonosis, de amplia distribución geográfica.

Reservorio

Es múltiple y diferente según las zonas geográficas; así, existe un reservorio salvaje, constituido por roedores (espermófilos fundamentalmente) y cánidos (zorro, chacal, etc.); un reservorio doméstico especialmente importante en la leishmaniosis del Mediterráneo, representado por el perro, un reservorio humano, propio del kala-azar de la India y africano, que es responsable de brotes epidémicos.

En el perro la leishmaniosis se presenta de una manera muy insidiosa, con adelgazamiento, adenopatías, epistaxis y depilación.

Mecanismo de transmisión

La forma habitual de transmisión del kala-azar en Europa y Asia es por artrópodos del género *Phlebotomus*. La hembra, que es hematófaga, pica a los huéspedes reservorios al anochecer e ingiere amastigotes. A los 8 días, los promastigotes se encuentran en sus glándulas salivales y los inoculan por regurgitación al picar un nuevo huésped. Menos frecuente es que se realice la transmisión por aplastamiento del parásito. En España, las especies más importantes son *P. perniciosus* y *P. minutus*. El género *Lutzomya* es el transmisor de la leishmaniosis visceral en Africa y Sudamérica.

La transmisión a través de la garrapata o del piojo del perro, aunque posible, es muy poco frecuente. Tan sólo tendría lugar, ocasionalmente, en el área mediterránea.

La transmisión interhumana es muy importante en el kala-azar de la India. Se realizaría a través de un artrópodo vector, si existen lesiones cutáneas accesibles a él, o por vía digestiva, mucosa (coito), cutánea, etc. Existen casos descritos por transfusión sanguínea y se ha apuntado como posible la transmisión placentaria.

Formas epidemiológicas

El kala-azar es una enfermedad endémica de regiones tropicales, subtropicales y templadas. En todas existe normalmente el reservorio triple (salvaje, doméstico y humano), si bien con predominio de uno y otro, que condiciona la forma de transmisión.

El kala-azar de la India se presenta de forma endemoepidémica, afecta fundamentalmente a adultos jóvenes, tiene como reservorio más importante al hombre y, en segundo lugar, al perro. En el kala-azar de China, el reservorio fundamental es el perro, pero existe, además, un reservorio salvaje importante. En el kala-azar del este y centro de Africa, el reservorio primordial es humano, mientras que, en el Mediterráneo y sudamericano, el más importante es el perro. En estos dos últimos, el grupo de población más afectado es el infantil menor de 5 años.

En España, la zonas más afectadas son las del litoral mediterráneo, Cáceres, Madrid y Toledo.

Profilaxis

La lucha contra el reservorio salvaje es prácticamente imposible, de ahí que las medidas deban ir encaminadas al tratamiento y control de los casos humanos y al control sanitario de los perros, con una correcta actualización del censo canino y actuación sobre los perros vagabundos.

Frente al artrópodo vector puede lucharse tanto en fase larvaria como adulta con insecticidas.

No existen medidas de quimioprofilaxis, y aunque se han realizado algunos ensayos de vacunación, no se han obtenido buenos resultados. La actuación sobre la población sana queda, por tanto, reducida al empleo de mallas protectoras, repelentes, insecticidas de acción residual, etc.

L. TROPICA

Produce la leishmaniosis cutánea o botón de Oriente, llamada también furúnculo de Jericó, botón de Alepo, etc. La enfermedad, que es endémica (raras veces epidémica) en Asia central, India, Mediterráneo, oeste de Africa, América central y Sudamérica, afecta principalmente a niños, pues los adultos tienen un alto grado de inmunidad. No suele coexistir con el kala-azar.

L. aethiopica tiene una distribución geográfica muy definida: este y sudoeste de Africa, en altitudes próximas a los 2.000 m.

Acción patógena

La forma habitual de transmisión es por picadura de la hembra de artrópodos del género *Phlebotomus*, que inoculan promastigotes en la piel, generalmente de la cara o extremidades. Estos elementos penetran en los histiocitos y células endoteliales de capilares próximos al sitio de la picadura. A continuación se produce una reacción inflamatoria, necrosis tisular y ulceración cutánea.

No existe una diseminación generalizada y no invade vísceras, aunque puede alcanzar los ganglios linfáticos próximos. En las formas difusas no suele producirse ulceración.

sino una afectación progresiva del tejido subcutáneo y múltiples nódulos. El período de incubación es muy variable y oscila de 2 semanas a varios años, aunque lo normal es que esté comprendido entre 2 y 5 meses.

El cuadro comienza con una pápula pruriginosa, generalmente única, en el sitio de la inoculación que aumenta de tamaño hasta alcanzar 2-3 cm. Posteriormente es sustituida por una costra seca, que cubre una úlcera circular, de bordes bastante bien definidos. El fondo aparece con abundante tejido de granulación y un contenido seroso o seropurulento. Alrededor de la úlcera existe un área de induración y va acompañada de afectación de los ganglios linfáticos regionales.

Después de varios meses, la úlcera cura espontáneamente y en su lugar queda una escara no pigmentada. Además, queda una inmunidad duradera, al menos para la cepa homóloga.

Como ya se ha señalado, pueden existir varias úlceras por haberse producido una picadura múltiple o bien por autoinoculación a partir de la lesión original. En ocasiones, las lesiones tienen un aspecto verrugoso o queloide.

En algunas regiones se presentan dos formas clínicas, en razón del agente etiológico. En los casos debidos a *L. tropica (L. tropica minor)*, la lesión es de tipo seco (urbana) y se caracteriza por tener un período de incubación largo, ulceración tardía, abundantes parásitos en la lesión y baja virulencia para el ratón, mientras que en los producidos por *L. major* (rural) sucede lo contrario.

Diagnóstico

Se realiza por observación microscópica y cultivos en medio NNN de material obtenido de la parte profunda de los bordes de la úlcera. El parásito no se encuentra en la sangre. La reacción de Montenegro es habitualmente positiva.

Tratamiento

Se emplean los mismos fármacos que para la leishmaniosis visceral. Algunos autores han obtenido buenos resultados con crioterapia, radioterapia o tratamiento local con quinacrina.

Epidemiología y profilaxis

Además del hombre, el reservorio principal, al menos en Irak y cuenca mediterránea, es el perro. En Asia Central, los reservorios más importantes son los roedores (*gerbiles*, meriones, etc.). Es posible que otros animales puedan ser igualmente reservorios (gato, oso, etc.).

La transmisión se realiza por artrópodos del género *Phlebotomus (P. papatasii, P. sergenti)*. Otras vías, aunque menos frecuentes, son el contacto directo (incluida la autoinoculación) y la transmisión pasiva por moscas del género *Stomoxys* (mosca del establo) a partir de úlceras abiertas.

Las medidas de profilaxis comprenden la actuación sobre el reservorio canino y roedores, la protección de las lesiones a los insectos y el empleo de insecticidas de acción residual (DDT) en viviendas, puertas, ventanas, etc., así como la utilización de repelentes.

L. BRAZILIENSIS Y L. MEXICANA

Son los protozoos responsables de la leishmaniosis cutáneo-mucosa, conocida también como leishmaniosis americana, espundia o bubas. En algunas zonas tiene nombre específico; Uta (Perú), úlcera de los chicleros (México), etc.

Las dos especies presentan algunas diferencias:

L. braziliensis crece mal en medio NNN, produce infección en el hámster lentamente y tiene una gran capacidad metastásica (abundantes lesiones mucosas).

L. mexicana crece bien en medio NNN y produce una rápida infección en hámster, con abundantes leishmanias en las lesiones. Es menos metastásica.

La patogénesis de la leishmaniosis cutáneo-mucosa es similar a la de leishmaniosis cutánea, pero se caracteriza por presentar con más frecuencia lesiones cutáneas múltiples y producirse, además, una ulceración de la mucosa faríngea, oral o nasal, esta última normalmente con carácter destructivo. La lesión mucosa aparece en general después de la curación de la úlcera o úlceras cutáneas y en ocasiones sin antecedentes de la existencia de éstas. Se produce por extensión de la superficie de la lesión cutánea o por metástasis linfosanguínea a partir de ella.

El período de incubación es de 10 días a 3-4 meses. Aparece una pápula en la cara, que posteriormente se ulcera y va acompañada de adenopatía regional. La lesión inicial puede curar, pero aparecen otras nuevas en las proximidades. Meses o años después, comienza la afectación mucosa, en principio en forma de infiltración y después con formación de una úlcera, que, si es nasal, destruye el tabique, pero no afecta el hueso.

El diagnóstico y tratamiento se realizan de la misma forma que se han descrito ya para los cuadros producidos por *L. tropica*. Existe una mayor resistencia a los antimoniales. Para el tratamiento de los cuadros producidos por *L. mexicana* también se emplea el pamoato de cicloguanilo.

El reservorio principal de la enfermedad comprende los cánidos, roedores y el hombre. La transmisión se realiza por artrópodos del género *Lutzomya*, garrapatas y contacto hombre-hombre.

Trypanosoma

Son protozoos transmitidos por artrópodos y flagelados en algún estadio de su ciclo biológico. Se distinguen dos subgéneros sobre la base de su forma de transmisión y distribución geográfica.

1. Subgénero *Trypanozoon*. Se incluye en la sección *Salivaria*, al desarrollarse en la estación anterior del artrópodo y es transmitido por inoculación. Comprende, entre otros, el grupo *T. brucei-evansi*, constituido por:

a) T. gambiense (T. brucei gambiense).
b) T. rhodesiense (T. brucei rhodesiense). Ambas especies producen la tripanosomiasis africana
c) T. brucei (T. brucei brucei). Patógeno animal, pero no humano.

2. Subgénero *Schizotrypanum.* Pertenece a la sección *Estercoraria,* pues se desarrolla en la estación posterior y se transmite por las heces del vector. Las especies más importantes son:

a) T. cruzi, agente de la tripanosomiasis americana.
b) T. rangeli, que puede producir parasitemia en el hombre, aunque sin manifestaciones clínicas de enfermedad.

T. GAMBIENSE Y T. RHODESIENSE

Producen la tripanosomiasis africana o enfermedad del sueño y son transmitidos por moscas del género *Glossina* («mosca tse-tse»).

1. *T. gambiense* es vehiculado fundamentalmente por *G. palpalis;* afecta al oeste y centro africano, y evoluciona de forma crónica.
2. *T. rhodesiense* tiene como principal agente vector *G. morsitans;* se localiza sobre todo en el este de Africa y presenta una evolución aguda.

Ciclo biológico

Ambas especies pueden presentarse en forma de epimastigote o trypomastigote. La fase de epimastigote es la que adoptan en el artrópodo vector y en los cultivos. La de trypomastigote aparece en el vector y en el huésped (sangre, LCR y vasos linfáticos).

El reservorio de *T. gambiense* es principalmente el hombre, mientras que el de *T. rhodesiense* está representado por animales. Machos y hembras del género *Glossina* ingieren trypomastigotes a partir del reservorio, que después de multiplicarse en el intestino emigran a las glándulas salivales del artrópodo. En el transcurso de este proceso de migración se transforman en epimastigotes. El epimastigote se divide por fisión binaria y se transforma en el elemento infectante o trypomastigote metacíclico (fig. 75-3).

Al picar la mosca a un nuevo huésped, inyecta estas formas metacíclicas de trypomastigote en el tejido subcutáneo, para pasar posteriormente a la circulación linfática y sanguínea. Los trypomastigotes sanguíneos constituyen la forma infectante para el artrópodo y pueden adoptar tres morfologías diferentes (larga, corta e intermedia). Se dividen también por fisión binaria, alcanzan el LCR y en ocasiones atraviesan la placenta (tripanosomiasis congénita).

Patogenia

La enfermedad tiene tres fases bien definidas.

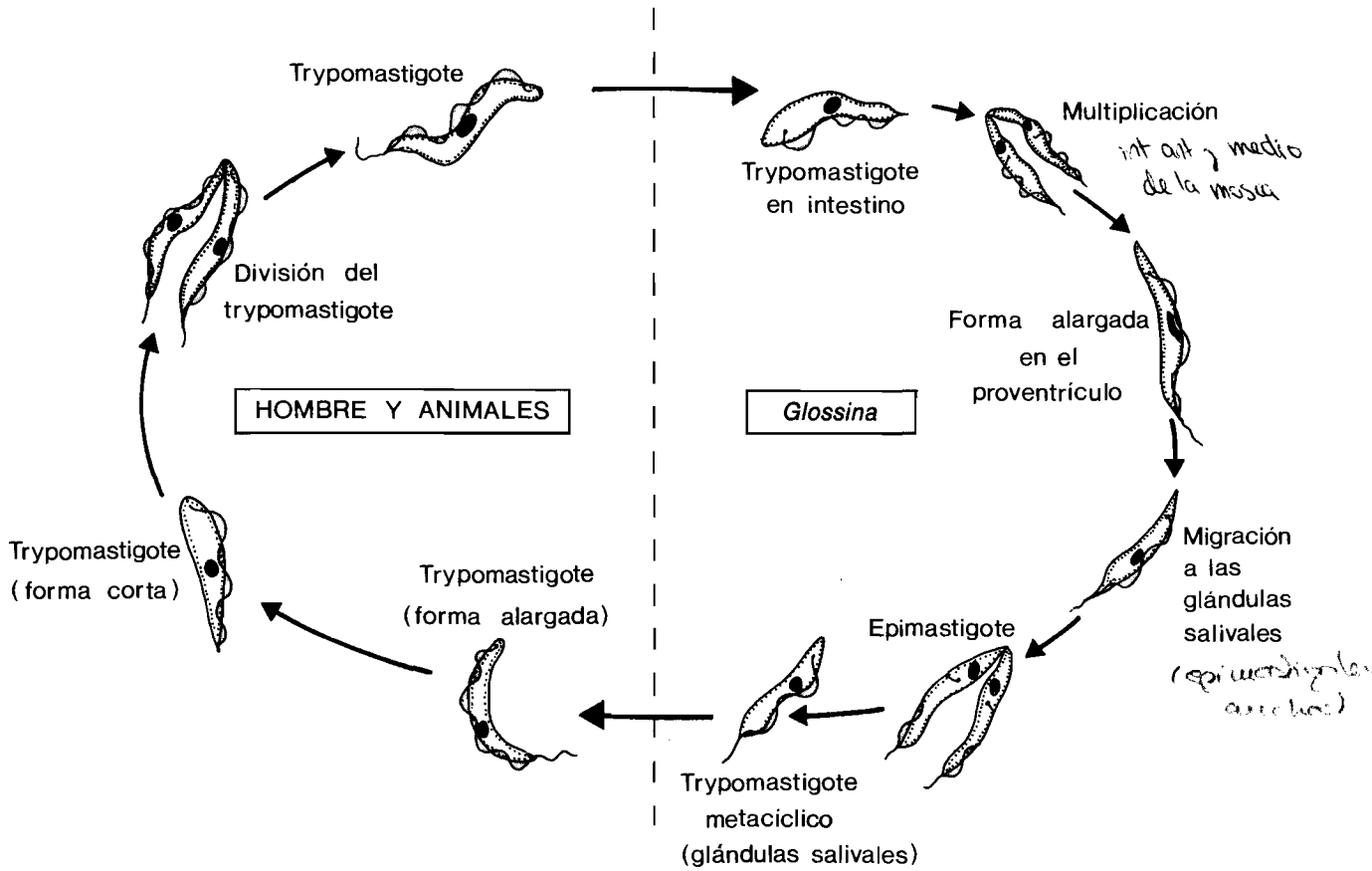


Fig. 75-3. Ciclo biológico de *T. gambiense* y *T. rhodesiense.*

Fase local

Coincide con la etapa de multiplicación de los trypomastigotes en el lugar de la inoculación y va acompañada de una reacción inflamatoria, edema y a veces ulceración (chancro de inoculación).

Fase hemolinfática

Se caracteriza por la lesión de las células del endotelio capilar, con endoarteritis, reacción perivascular granulomatosa y hemorragia. Se produce, además, una invasión de los espacios tisulares (es, por tanto, una parasitación extracelular) de ganglios linfáticos, bazo y, en ocasiones, hígado y riñón. En estas vísceras se produce una proliferación de linfocitos y monocitos, con posterior fibrosis y degeneración.

En las infecciones por *T. rhodesiense* se afecta normalmente, además, el miocardio. La mayor parte de los pacientes que mueren lo hacen en esta fase.

Fase de invasión del SNC

Se caracteriza por un estado de toxemia y encefalitis debido a la aparición de endoarteritis capilar, fundamentalmente en el cerebro, con infiltración perivascular de linfocitos, plasmocitos e histiocitos (células Mórula o Mott), desmielinización y proliferación de la neuroglia. Todo esto comporta una degeneración cerebral y nerviosa.

El mecanismo patogénico de estas parasitosis no se conoce con exactitud, pero se sabe que el tripanosoma provoca lesiones por acción directa y mediante enzimas diversas, hemolisinas y factores inflamatorios. Posiblemente se libere, además, algún componente tóxico que explicaría la discreta anemia hemolítica habitual. También parecen importantes las variaciones antigénicas y los fenómenos autoinmunes.

Manifestaciones clínicas

Los cuadros producidos por *T. gambiense* tienen un curso crónico, la enfermedad dura varios años y la evolución aguda es excepcional. Los debidos a *T. rhodesiense* son de evolución aguda, rápida, y la mayor parte de las veces provocan la muerte en 1 año.

Tripanosomiasis por T. gambiense

Es la tripanosomiasis del oeste y centro africano, que, como se ha señalado, tiene un curso crónico.

El período de incubación oscila de 6 a 12 días, aunque puede prolongarse varios meses. La mayor parte de las veces aparece un chancro de inoculación (chancro tripanosómico), que es una lesión cutánea dura y dolorosa, que puede ulcerarse. Va acompañado de adenopatía regional y persiste durante algunas semanas.

La fase hemolinfática tiene una duración de 6 meses a varios años. Inicialmente aparece fiebre poco elevada, con carácter irregular, malestar general; signos tóxicos, cefalea, insomnio y a veces rash cutáneo (tripánides). Posteriormente, al ser invadido el tejido linfático, se observa una linfadenopatía generalizada, más evidente en la parte posterior del cuello (signo de Winterbottom), acompañada de esplenomegalia y hepatomegalia.

Una vez que se produce la invasión del SNC, el paciente aparece apático y somnoliento, presenta signos de ataxia cerebelosa, hiperestesia cutánea (signo de Kerandel) y en la fase final convulsiones y coma.

Tripanosomiasis por T. rhodesiense

La afección se conoce como tripanosomiasis del este de Africa. Tiene carácter agudo y es más grave.

Se diferencia de la anterior por un período de incubación más corto, fiebre alta y persistente, síntomas tóxicos intensos, vómitos, edema facial, adenopatías escasas y miocarditis grave (taquicardia, arritmia, extrasístoles e hipotensión) que conduce a la muerte en pocas semanas. La fase de invasión del SNC se produce muy rápidamente y muchas veces es simultánea con la fase de afección hemolinfática.

Diagnóstico

Existen algunos datos inespecíficos bastante significativos, tales como aumento de células y globulinas en LCR, elevación de la tasa de IgM en suero y discreta anemia (*T. rhodesiense*).

El procedimiento de diagnóstico directo se realiza mediante observación microscópica, previa tinción de Giemsa o Wright, o con cultivos en medios de Weinman o Brand-Mehlman de muestras sanguíneas (*T. rhodesiense*), aspirado de nódulos linfáticos (*T. gambiense*), exudado del chancro de inoculación y LCR.

El estudio microscópico de los productos patológicos revela el parásito en forma de trypomastigote. En los cultivos se encuentra en fase de epimastigote.

Puede recurrirse a la inoculación experimental del ratón o rata (*T. rhodesiense*) y mono (*T. gambiense*).

El diagnóstico indirecto se utiliza únicamente para estudios de grandes masas de población. Los anticuerpos son de aparición precoz y las pruebas tienen en general una elevada sensibilidad, pero son poco específicas. Las pruebas de mejores resultados son IFI y ELISA. También puede emplearse RFC, HAI y radioinmunoensayo.

Tratamiento

Se han usado la pentamidina, suramina y los arsenicales orgánicos. Los dos primeros no penetran en el SNC.

En la fase hemolinfática, el fármaco de elección para el tratamiento de los cuadros por *T. gambiense* es la pentamidina y el de segunda elección, la suramina. En las afecciones por *T. rhodesiense*, la suramina es el fármaco elegido y la pentamidina, el de sustitución.

Los arsenicales son más tóxicos, pero son necesarios cuando existe afectación del SNC. Los más empleados son los compuestos trivalentes (melarsoprol) o pentavalentes (triparsamida). También puede utilizarse el melarsoprol asociado a la nitrofurazona.

Epidemiología y profilaxis

El reservorio de *T. gambiense* es principalmente humano, si bien existe, además, un reservorio animal (se ha encontrado en cabras, cerdos, perros, etc.). Para *T. rhodesiense*, los reservorios más importantes son los antílopes, ganado vacuno y cerdo.

La transmisión se efectúa por moscas del género *Glossina* («moscas tse-tse»), de las que se conocen al menos 20 especies transmisoras. *G. palpalis (T. gambiense)* es una especie ribereña y de colecciones de agua, mientras que *G. morsitans (T. rhodesiense)* es propia de la sabana y zonas de la selva taladas recientemente. La transmisión es efectuada por inoculación por el macho y la hembra. Menos frecuente es la transmisión mecánica por otros insectos, por transfusión o por vía placentaria.

La profilaxis se basa en la lucha contra el reservorio y artrópodo vector (DDT, dieldrín), empleo de repelentes y quimioprofilaxis, cuando se viaja por zonas endémicas. El fármaco de elección es la pentamidina, que a una sola dosis confiere protección para 3-6 meses.

T. CRUZI

Produce la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas que se presenta en zonas del nuevo continente comprendidas entre los 42° de latitud norte y 43° de latitud sur. Es transmitida por redúvidos de los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*.

Ciclo biológico

T. cruzi se encuentra en forma de amastigote y promastigote en los tejidos del huésped, como epimastigote en el vector, cultivos y tejidos del huésped y en fase de trypomastigote en el vector y sangre del huésped (fig. 75-4).

La infección del artrópodo vector se realiza por la ingestión de trypomastigotes sanguíneos que se transforman en el tubo digestivo en epimastigotes (formas cortas), que se dividen por fisión binaria dando nuevos epimastigotes (formas largas). Estos epimastigotes se transforman en trypomastigotes metacíclicos, que son expulsados por las heces.

Cuando el redúvido infectado pica a un nuevo huésped para tomar sangre, deposita su contenido intestinal que contiene trypomastigotes metacíclicos. Estos a través de la herida de la picadura, otras heridas próximas, folículos pilosos e incluso la piel o mucosas sanas penetran en el tejido subcutáneo. Desde esta localización llegan a la sangre en la que difunden vehiculados por leucocitos, linfocitos, monocitos o como elementos libres. Estos trypomastigotes no se dividen, pero penetran en los tejidos, especialmente músculo cardiaco y SRE, y se transforman en amastigotes (formaciones intracelulares). Los amastigotes se multiplican por fisión binaria y se transforman en promastigotes y éstos, en

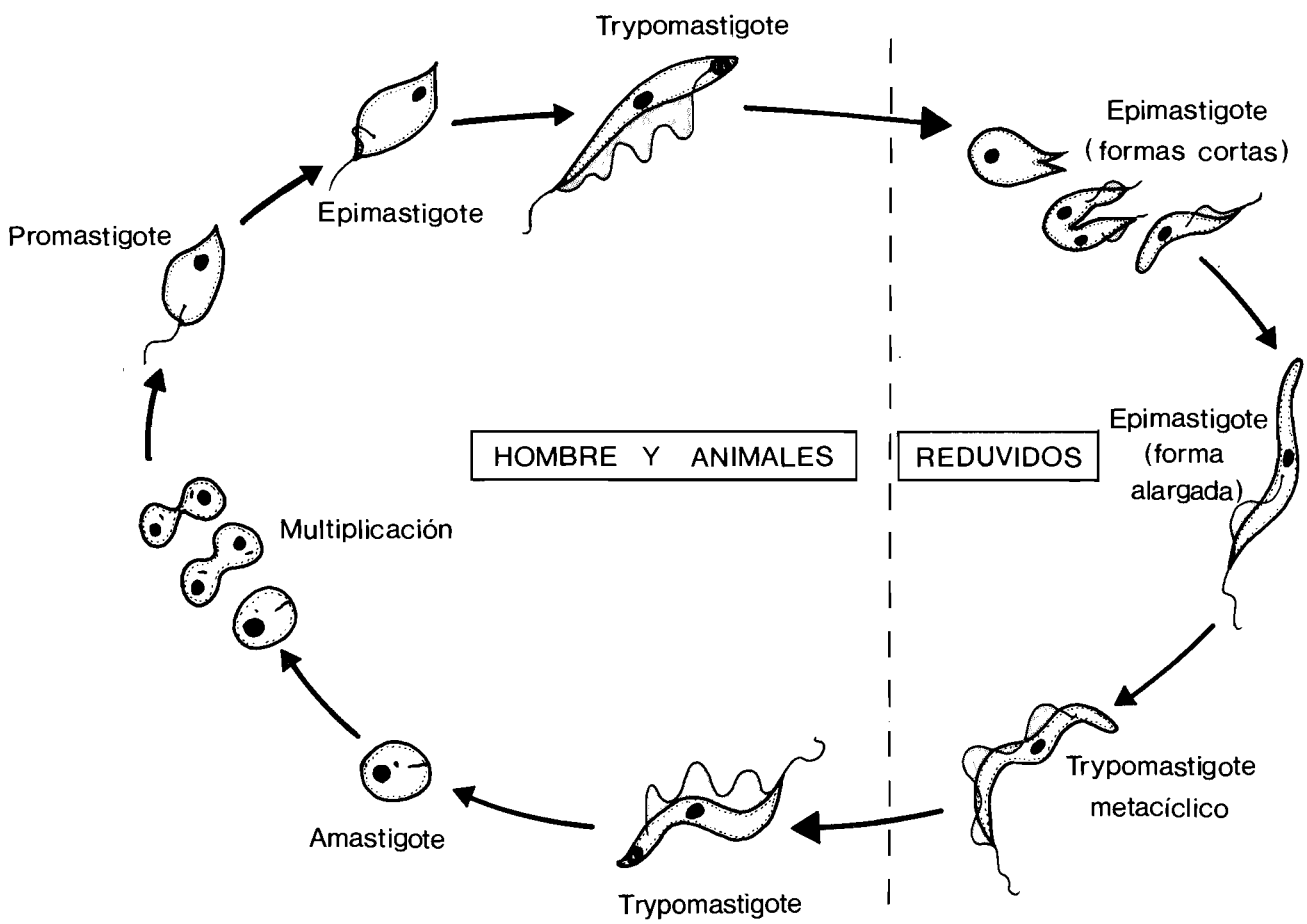


Fig. 75-4. Ciclo biológico de *T. cruzi*.

epimastigotes, que son liberados al torrente circulatorio, donde adoptan la forma de trypomastigote con aspecto de letra C o U.

Patogenia

Hay una fase aguda de 1-3 meses de duración, con intensa parasitemia, y una fase crónica.

La inoculación del parásito tiene lugar normalmente en las proximidades de boca o nariz. Al multiplicarse los amastigotes, se forman unos pseudoquistes, que más tarde se rompen para dejar en libertad nuevos elementos que vuelven a parasitar otras células. A consecuencia de la lesión celular se produce una reacción inflamatoria en las zonas en torno a aquélla. Todas las células del organismo pueden ser parasitadas, pero especialmente las del SRE, neuroglia, fibras musculares, incluidas las cardiacas, y el tubo digestivo.

Manifestaciones clínicas

El período de incubación es de 1-2 semanas y la enfermedad evoluciona en dos fases, aguda y crónica.

Fase aguda

La mayor parte de las veces pasa inadvertida y, cuando se detecta, aparece principalmente en niños. Comienza con una pápula de color oscuro o un nódulo ulcerado (chagoma), en el lugar de la picadura, proximidades de la boca, ojo o nariz, acompañado de adenopatía regional. Un buen número de pacientes muestran un edema unilateral bipalpebral y adenopatía preauricular muy manifiesta (signo de Romaña).

Posteriormente, al producirse la invasión del SRE, aparece la fiebre, con adenopatías generalizadas, hepatoesplenomegalia y a veces rash cutáneo. Días después surgen signos de miocarditis y meningoencefalitis.

Los síntomas de esta fase, cuya mortalidad es de 5-10 %, duran 2-3 meses.

Fase crónica

Se manifiesta varios años después y a veces sin antecedentes de la fase anterior. Los dos hechos primordiales son la afectación miocárdica, que conduce a un deterioro cardiaco progresivo y muerte en 6-12 meses, y la dilatación de los órganos tubulares: megacolon, megaesófago, megauréter, etc., razón por lo que se conoce como enfermedad «mega».

Existe una forma congénita, responsable de abortos y partos prematuros, con cardiomegalia, megaesófago y hepatoesplenomegalia, que es mortal en pocos meses.

Diagnóstico

El diagnóstico directo se realiza mediante el examen microscópico, previa tinción de Giemsa de muestras de sangre, LCR y tejidos del SRE. En las extensiones de los dos primeros tipos de muestras se detecta la presencia de trypomastigotes y en los de tejidos, la de amastigotes. La observación de epimastigotes en los tejidos es más difícil.

Los cultivos en células diploides humanas o en el medio NNN constituyen el procedimiento de elección, especialmente cuando se trata de detectar parásitos en el LCR. En los cultivos aparecen en forma de epimastigote.

El xenodiagnóstico es un método poco empleado, aunque de indudable utilidad. Se realiza examinando las heces de redúvidos que han picado al paciente, a los 10-30 días de la picadura.

Para el diagnóstico indirecto se emplea RFC, IFI, ELISA y HAI. Estas pruebas son positivas a las 3-4 semanas, pero son más eficaces en la fase crónica. En esta fase, la prueba de elección es la RFC, que es positiva en el 100 % de los casos, y se consideran significativos los títulos de 1/8.

Tratamiento

Sólo es eficaz en la fase aguda. Los fármacos que hay que emplear son el Nifurtimox durante 3-4 meses o el Benzonidazol durante 2 meses. Menos eficaz es el fosfato de primaquina al no presentar aún acción sobre los amastigotes.

Epidemiología y profilaxis

El reservorio es animal (armadillos, ratón campestre, perro, gato, cerdo, etc.) y humano.

La transmisión se realiza casi siempre por artrópodos de la familia *Reduvidae* y subfamilia *Triatomidae*, que incluye varios géneros que pueden transmitir la enfermedad. Los más importantes son *Triatoma (T. infestans)*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*. Estos redúvidos pican en general por la noche y transmiten la parasitación a través de las heces por la herida de la picadura, otras heridas o la piel y mucosas (conjuntival) sanas.

Resulta menos frecuente el contagio por transfusión, coito, alimentos, leche materna, accidental (en el laboratorio) y congénito.

Las medidas de profilaxis se basan en el control de donantes seropositivos en áreas endémicas, eliminación del reservorio animal y lucha contra el artrópodo vector mediante insecticidas de contacto.

Giardia

G. INTESTINALIS

Se trata de un protozoo flagelado, descubierto por Leeuwenhoek (1681), pero descrito por Lambl (1859), que produce parasitación intestinal, de manera especial en niños, en ambientes de bajo nivel higiénico-sanitario. Su espectro clínico oscila de cuadros gastrointestinales agudos o crónicos a los de malabsorción.

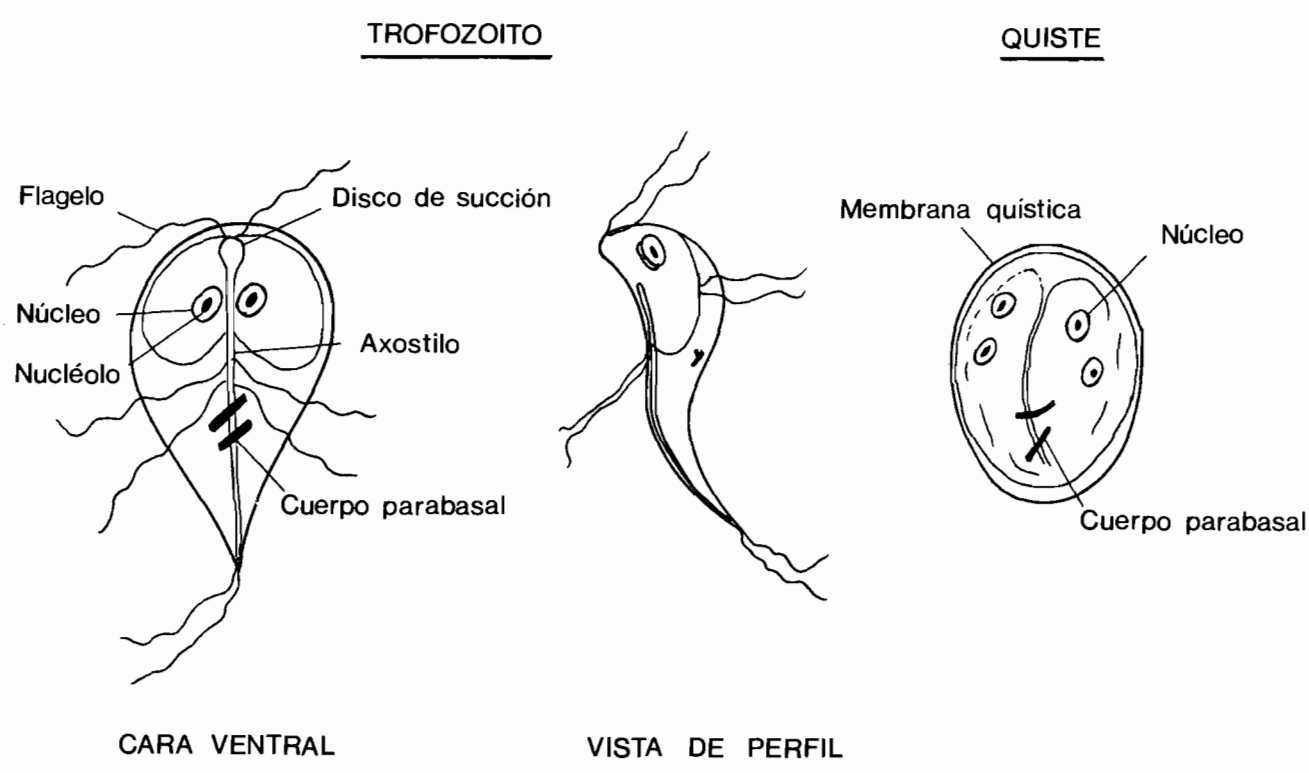


Fig. 75-5. Trofozoitos y quiste de *G. intestinalis (G. lamblia).*

En personas adultas, la mayor parte de las veces, la parasitación es asintomática, aunque se han descrito algunos brotes diarreicos transmitidos por agua contaminada con el parásito.

G. intestinalis (G. lamblia) es únicamente parásito de la especie humana, si bien otros animales pueden ser reservorio temporal.

Morfología y ciclo biológico

G. intestinalis tiene dos fases o formas biológicas: la forma vegetativa o trofozoito y el quiste (fig. 75-5).

El trofozoito tiene aspecto piriforme, con un polo anterior redondeado y otro posterior afilado; es el único protozoo que presenta simetría bilateral completa. Su tamaño medio tiene 15 µm de longitud por 8 µm de anchura y 3 µm de espesor.

La cara posterior es convexa y la anterior, cóncava. En esta última se encuentran el axostilo (engrosamiento protoplásmico que divide el parásito en dos mitades), dos núcleos anteriores con nucléolos muy manifiestos, el disco de succión, cuatro pares de flagelos y los corpúsculos parabasales (cuerpos cromatínicos). El trofozoito rara vez aparece en las heces, excepto en aquellos casos en que existe una aceleración del tránsito intestinal, pero, al ser extremadamente lábil, se destruye rápidamente en el medio ambiente.

El quiste es ovalado o elíptico y de un tamaño de 12 × 8 µm. Es refringente y con aspecto de balón de fútbol. Posee dos o cuatro núcleos con sus correspondientes nucléolos y una especie de axonemas que corresponden a los flagelos retraídos. La pared o membrana quística es doble y bastante resistente. Cuando se coloca en solución salina, se pone de manifiesto en su superficie la existencia de múltiples fibrillas retráctiles. El quiste es la forma habitual del parásito en las heces.

El ciclo biológico de *G. intestinalis* es muy sencillo al no necesitar huésped intermediario. Su «hábitat» es el intestino delgado alto, fundamentalmente el duodeno. El trofozoito, que permanece fijado a la superficie del epitelio mediante el disco de succión, se divide por fisión binaria y, al llegar al colon, como las condiciones intestinales le son desfavorables, se transforma en quiste.

El quiste sale con las heces y constituye la forma infectante. Penetra por vía digestiva y por la acción del jugo gástrico pierde la envoltura dejando en libertad el trofozoito en la luz intestinal.

Patogenia

Existen varios posibles mecanismos por los que *G. intestinalis* puede alterar el funcionalismo intestinal y la absorción de nutrientes. Los más importantes son:

1. Efecto de barrera mecánica.
2. Competición de nutrientes.
3. Lesión de las células epiteliales sobre todo en las microvellosidades. En ocasiones produce ulceración de la mucosa. Este efecto es debido a la acción directa del parásito sobre las células del epitelio intestinal y, posiblemente, a la actuación de toxinas solubles secretadas por el propio parásito.
4. Invasión del epitelio, que, aunque es superficial, va acompañado de reacción inflamatoria.

Son factores favorecedores la aclorhidria, hipogammaglobulinemia, infecciones bacterianas asociadas, el déficit de IgA en la mucosa intestinal e inmunodeficiencias.

Manifestaciones clínicas

La giardiasis es una parasitación, la mayor parte de las ocasiones, asintomática. Los cuadros clínicos se presentan casi de forma exclusiva en niños y varían desde la diarrea trivial a un síndrome severo de malabsorción.

En niños bien nutridos y en personas adultas, la parasitación suele pasar inadvertida.

El período de incubación es variable, aunque normalmente oscila entre 1 y 2 semanas. Los síntomas digestivos más frecuentes son el dolor abdominal, náuseas, flatulencia y diarrea. Esta última es de aspecto pastoso y color amarillo brillante por el alto contenido en grasas que poseen las heces. Puede existir moco, pero no hay sangre o pus. El número de deposiciones diarias es muy variable y oscila entre 4 y 10.

La diarrea suele tener un carácter recidivante, lo que confiere a la enfermedad un curso crónico con anorexia, pérdida de peso, en ocasiones, aunque no siempre, un cuadro de malabsorción y deficiencias en disacaridasas (lactasa). A veces se producen carencias de vitaminas A y B_{12} y parasitación de la vesícula biliar con dolores cólicos e ictericia.

Diagnóstico

Es fundamentalmente directo y se basa en la búsqueda microscópica del parásito en las heces o en el aspirado duodenal.

En las heces se encuentran los quistes aproximadamente en la tercera parte de los pacientes, por lo que es necesario practicar 6-8 exámenes.

La muestra más idónea es el aspirado duodenal, al contener gran cantidad de trofozoitos; se calcula que un solo aspirado duodenal tiene la misma eficacia que 10 muestras de heces.

El diagnóstico de tipo indirecto, por inmunofluorescencia, da resultados positivos en el 60-80 de los casos, pero sólo debe recurrirse a él cuando los exámenes de heces sean repetidamente negativos y no pueda realizarse la aspiración del contenido duodenal.

Tratamiento

El fármaco de elección para el tratamiento de la giardiasis es el metronidazol, por vía oral, durante 10 días. También pueden emplearse el hidroclorhidrato de quinacrina o la furazolidona. Deben tratarse tanto los cuadros sintomáticos como los asintomáticos.

Epidemiología y profilaxis

El reservorio es fundamentalmente humano, y la transmisión se realiza por vía digestiva (agua, alimentos, moscas, etc.). Son factores epidemiológicos importantes la higiene individual, saneamiento ambiental y la hiponutrición.

Las medidas profilácticas irán encaminadas a conseguir la potabilización del agua, higiene de la alimentación, educación sanitaria, etc.

Trichomonas

T. VAGINALIS

T. vaginalis es un protozoo flagelado, descubierto por Donné en 1836, que parasita el tracto urogenital. Es patógeno sólo para la especie humana, aunque experimentalmente se ha logrado producir parasitación en algunos animales. Afecta la próstata y uretra en el varón y es responsable del 15-20 % de las vulvovaginitis femeninas.

Morfología

T. vaginalis no adopta la forma quística. El trofozoito tiene una morfología piriforme, de 18-25 µm de longitud por 12-18 µm de anchura, con un polo anterior redondeado y otro posterior más agudo. Es extraordinariamente móvil y muy sensible a los agentes externos, si bien puede resistir algunas horas en ambiente húmedo.

En la cara anterior, posee un núcleo redondeado o ligeramente ovalado, con un nucléolo de disposición central o subcentral. El citoplasma, que es de aspecto granuloso, está surcado por múltiples vacuolas y algunas granulaciones siderófilas. Tiene cuatro flagelos libres y uno más que se fija al borde libre de la membrana ondulante, que es corta y casi nunca sobrepasa el tercio posterior del parásito. El axostilo es bastante manifiesto y se extiende desde el núcleo hasta el polo posterior. Posee también un blefaroplasto anterior compuesto de kinetonúcleo y corpúsculo basal, del cual arrancan los flagelos y un citostoma (fig. 75-6).

Manifestaciones clínicas

Se desconocen los determinantes patogénicos de *T. vaginalis*. En la mujer existen factores tales como las alteraciones del pH vaginal y glucógeno vaginal e insuficiencia estrógena, que favorecen la parasitación.

La tricomoniasis tiene un período medio de incubación de 4-6 días, aunque pueden producirse casos de hasta 3 semanas. La sintomatología es distinta en el hombre que en la mujer. En el hombre, la mayor parte de las veces es asintomática. En otras se presenta como una exudación uretral, purulenta en la fase inicial y serosa posteriormente, que va acompañada de quemazón uretral y disuria.

En la mujer produce una sensación de quemazón a nivel vulvar y vaginal y un intenso prurito vulvar, probablemente de etiología alérgica, ya que estas pacientes presentan un aumento de IgE. Existe una abundante leucorrea blanco-amarillenta o amarillogrisácea, en principio cremosa y después espumosa, extraordinariamente maloliente y que fluye

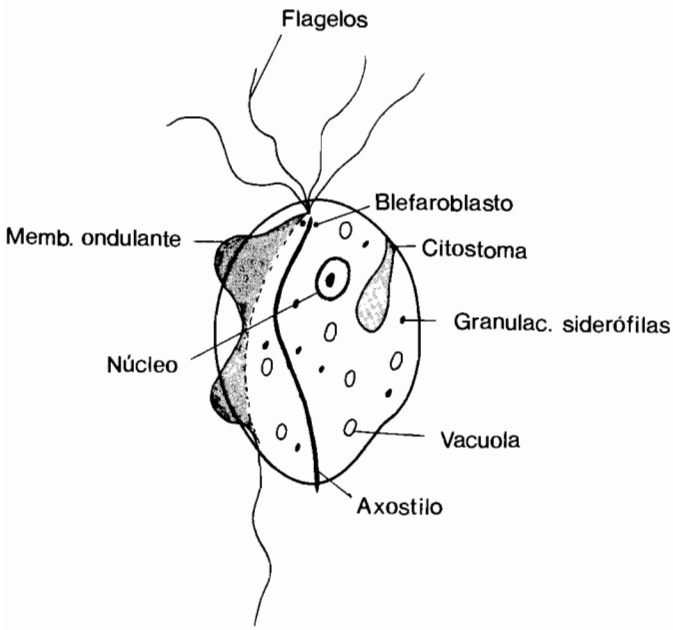


Fig. 75-6. *T. vaginalis.*

constantemente. Un 20 % de mujeres refieren signos de disuria. La sintomatología es habitualmente más florida durante el embarazo y en la última fase del ciclo menstrual. En algunas ocasiones, la parasitación puede ser asintomática.

Diagnóstico

Se realiza por observación microscópica de los trofozoitos en el exudado vaginal de la mujer y en el exudado uretral o sedimento urinario del hombre. El estudio puede efectuarse en fresco o bien por tinción de Giemsa o mediante tinciones especiales. La observación en fresco es una técnica muy satisfactoria al permitir la fácil detección de *T. vaginalis* debido a su gran movilidad.

Existen medios de cultivo selectivos generalmente con suero, hidrolizado de caseína y antibióticos, que se incuban a 35-37 °C y permiten en 24-48 horas el diagnóstico del cuadro.

El diagnóstico indirecto por hemaglutinación, inmunofluorescencia y fijación del complemento no suele ser necesario. Existen, además, reacciones cruzadas con otras especies de género.

Tratamiento

El tratamiento de la tricomoniasis se realiza con metronidazol por vía oral durante 10 días. Debe realizarse en los dos miembros de la pareja. En la mujer es conveniente acompañarlo de un tratamiento local con óvulos vaginales. Se han realizado tratamientos monodosis que se han demostrado eficaces.

En el hombre puede producirse la curación de forma espontánea en unas semanas, si no hay reinfección.

Epidemiología y profilaxis

La fuente de infección es exclusivamente humana y el reservorio más importante es el varón, pues, como ya se ha señalado, existen portadores sin sintomatología. El mecanismo de transmisión es por contacto sexual y, menos probablemente, aunque quizá, por agua, toallas, etc. Las niñas pueden contagiarse en el momento de nacer debido a que en los primeros días de vida el pH de la vagina es alcalino.

La única profilaxis válida es el tratamiento del reservorio y la educación sanitaria de la pareja y de la población en general.

BIBLIOGRAFIA

Beck, J. W., y Davies, J. E.: The flagellates (*Mastigophora*). En Medical Parasitology, 42--79. C. V. Mosby, Saint Louis, 1981.

Kirchhoff, L. V., y Neva, F. A.: *Trypanosoma* species (Chaga's Disease): En Mandell, G. L.; Douglas, Jr., R. G., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2.ª ed. 1531-1537. Wiley, New York, 1531-1537, 1985.

Kreier, J. P.: Parasitic Protozoa. Vol. I. Taxonomy. Kinetoplastics and flagellates of fish. Academic Press, New York, 1977.

Manson-Bahr, P. E. C.: Leishmaniasis. En Hoeprich, P. D. (dir.): Infectious Diseases, 1269-1281. Harper and Row, Philadelphia, 1983.

Marsden, P. D.: Current concepts in parasitology: Leishmaniasis. N. Engl. J. Med., 300, 350-352, 1979.

Pearson, R. D., y Queiroz Sousa, A.: *Leishmania* species (Kala-azar, cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis). En Mandell, G. L.; Douglas, Jr., R. G., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Disease, 2.ª ed., 1522-1531. Wiley, New York, 1985.

Smith, J. W., y Wolfe, M. S.: Giardiasis. Ann. Rev. Med., 31, 373-383, 1980.

Sunt, T.: Introduction to hemoflagellates. American trypanoso miasis (Chagas' disease). African trypanosomiasis. Leishmaniasis. En Pathology and Clinical Features of Parasitic Diseases. Masson, New York, 1982.

Williams, P., y Coelho, M. D. V.: Taxonomy and transmission of *Leishmania*. Adv. Parasitol., 16, 1-42, 1978.

Wolfe, M. S.: Giardiasis. Clin. Microbiol. News, 2, 1-3, 1980.

Capítulo 76

Sporozoa: Plasmodium

José Angel García-Rodríguez

El género *Plasmodium* pertenece al *phylum Sporozoa* e incluye más de 100 especies, cuatro de las cuales son agentes etiológicos del paludismo humano: *P. vivax* (Grassi y Feleti, 1890) y *P. ovale* (Stephens, 1922), productores de la terciana benigna, *P. falciparum* (Welch, 1897), agente del paludismo pernicioso o terciana maligna, y *P. malariae* (Laveran, 1880), responsable de la cuartana benigna.

El paludismo es una enfermedad endémica de zonas tropicales *(P. falciparum)*, subtropicales *(P. malariae* y *P. vivax)* y continente africano *(P. ovale)*. El 95 % de los casos son producidos por *P. vivax* y *P. falciparum*. Aunque puede ser transmitido al hombre por transfusión sanguínea, jeringas contaminadas o de forma congénita, lo normal es que sea vehiculado por picaduras de la hembra del mosquito *Anopheles*.

Existen otras especies responsables del paludismo en animales (simios, roedores, aves), que experimentalmente, y algunas de forma natural, pueden ser transmitidas al hombre: *P. knowlesi, P. cynomolgy, P. brasilianum, P. inui* y *P. shortii*.

CICLO BIOLOGICO

Es prácticamente igual en las cuatro especies y presenta dos etapas o fases bien diferenciadas (figs. 76-1 y 76-2).

1. Fase asexuada, esquizogónica o endógena, con multiplicación en el huésped vertebrado (hombre). Esta fase es doble:

a) Esquizogonia exoeritrocítica o tisular, que se produce en las células parenquimatosas hepáticas.
b) Esquizogonia eritrocítica, que tiene lugar en el interior de los hematíes.

2. Fase sexuada, esporogónica o exógena, que se produce en el tubo digestivo de la hembra del mosquito *Anopheles*.

Desarrollo en el huésped vertebrado: fase asexuada

Fase tisular o exoeritrocítica

Se llama también «fase preeritrocítica». El paludismo se transmite casi siempre por inoculación de esporozoitos por picadura de la hembra del mosquito *Anopheles*. Los esporozoitos penetran en los capilares subcutáneos y se distribuyen por el torrente circulatorio. Algunos son fagocitados, pero otros penetran en las células parenquimatosas hepáticas, de forma que en 30 minutos ha desaparecido de la circulación. En las células hepáticas, estas formas exoeritrocíticas (formas EE) se multiplican por esquizogonia *(esquizogonia primaria exoeritrocítica)* y dan lugar a una formación de 45-60 µm, que se llama esquizonte hepático o criptozoico. Transcurridas 1-2 semanas, el esquizonte se rompe y libera de 10.000 a 40.000 merozoitos *(merozoitos criptozoicos)*, algunos de los cuales son fagocitados, pero otros invaden los hematíes presentes en los sinusoides hepáticos y pasan así a la circulación. Una vez que penetran en los hematíes, no reinvaden el hígado; por esto, las infecciones por transfusión, salvo que contengan esporozoitos, no dan lugar a la aparición de formas exoeritrocíticas.

En las infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*, y quizá *P. malariae*, no todos los merozoitos invaden los hematíes, sino que algunos reinfectan otros hepatocitos, se multiplican lentamente *(esquizogonia secundaria exoeritrocítica)* y persisten meses o años en estado latente o «durmiente» *(formas latentes* o *hipnozoitos)*. Estos elementos son la causa de las «recurrencias» (recaídas tardías), que se presentan en infecciones por aquellas especies.

P. falciparum no da fase esquizogónica secundaria exoeritrocítica, pero las «recrudescencias» (recaídas tempranas), es decir, la reaparición de la parasitemia a partir de infecciones inaparentes de los hematíes, parecen presentarse sólo en infecciones por esta especie.

Fase eritrocítica

Los merozoitos (fig. 76-3) tienen un tamaño de 1-2 µm y poseen una membrana trilaminar. A la membrana externa está adherida una especie de glicocálix o cubierta parasitaria, que es la responsable de la fijación a los eritrocitos.

Los merozoitos (fig. 76-4) penetran en los hematíes por «endocitosis». Se adhieren por su polo anterior (anillo polar), con intervención directa de la cubierta del parásito, a la membrana de los eritrocitos. Sustancias secretadas por micronemas y roptrias provocan una invaginación hacia dentro de la membrana del hematíe, y se forma inicialmente una cavidad en forma de copa, en la cual se moverá el merozoito, y posteriormente una «vacuola parasitófora», en la

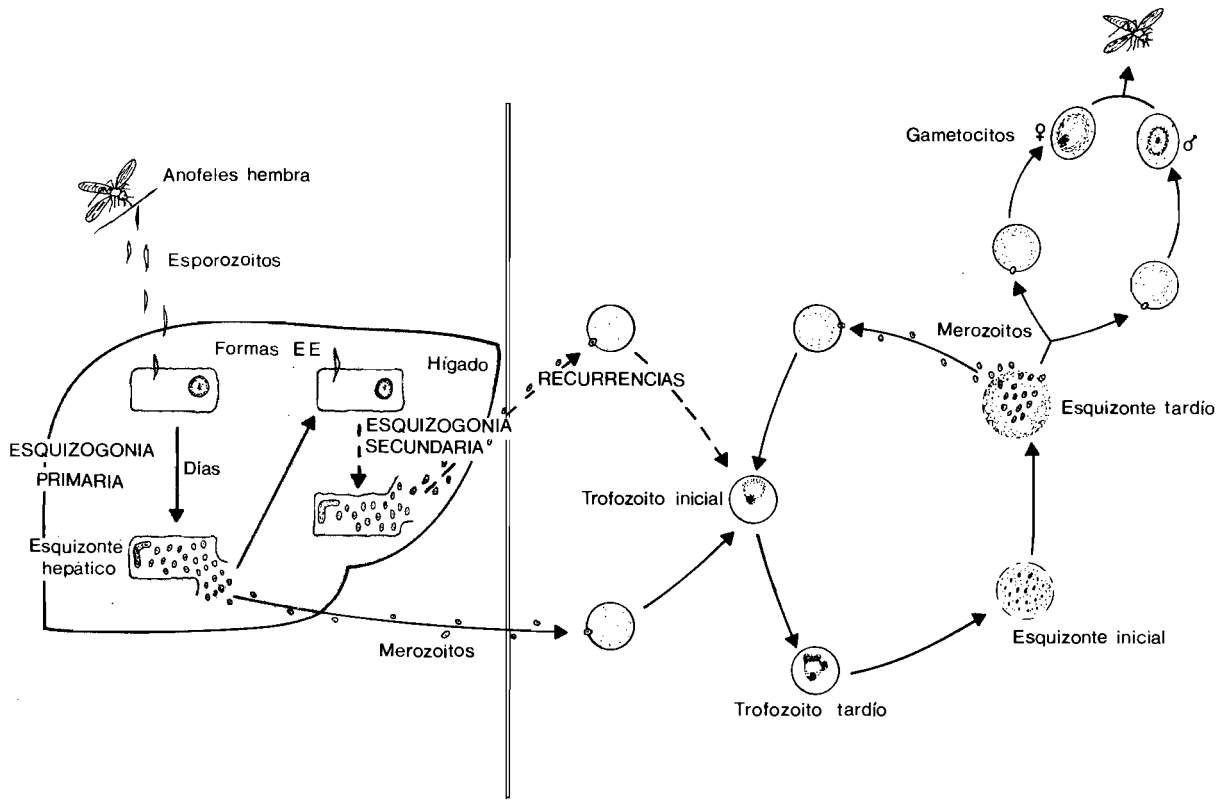


Fig. 76-1. Fase asexuada del género *Plasmodium*.

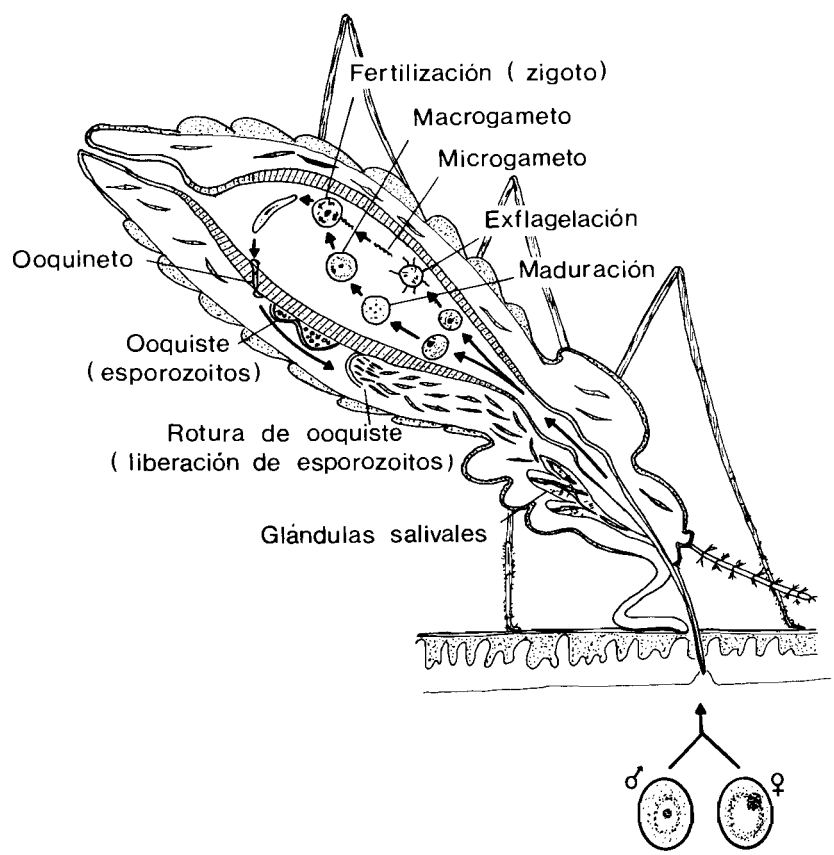


Fig. 76-2. Fase sexuada del género *Plasmodium*.

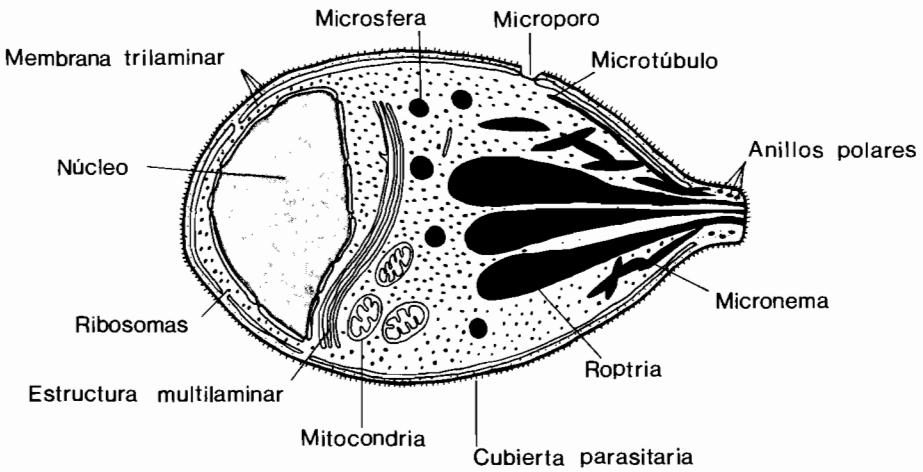


Fig. 76-3. Estructura del merozoito.

que quedará englobado. Durante este proceso, la cubierta del merozoito queda retenida en la superficie del hematíe y es finalmente desprendida y dispersada en el plasma sanguíneo.

El período de tiempo que transcurre, desde el comienzo de la infección hasta que se detectan parásitos en sangre periférica, recibe el nombre de «período prepatente».

El proceso de invasión hemática está influido por determinados factores. *P. vivax* y *P. ovale* sólo infectan eritrocitos jóvenes, en tanto que *P. falciparum* puede parasitar hematíes de cualquier edad. Los eritrocitos *Duffy-negativos* no son sensibles a *P. vivax*. Las hemoglobinas C, E y S, así como las deficiencias del hematíe en glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, inhiben el desarrollo de *P. falciparum*.

Una vez en el interior del eritrocito, el merozoito se nutre a expensas del hematíe y se transforma en un cuerpo pequeño, redondeado y de apariencia anular (tiene una vacuola que desplaza el citoplasma a la periferia y el núcleo hacia uno de los polos), que se llama *formación en anillo* o *trofozoito inicial*. Posteriormente se produce un incremento del tamaño del parásito por aumento del citoplasma, con incorporación y digestión de la hemoglobina del hematíe que se ha transformado en un pigmento (hematina) o hemozoina (combinación proteica de la hematina). Esta pigmentación ferrosa se reconoce en el parásito, en forma de granulaciones de color oscuro. El trofozoito, antes de dividirse el núcleo, se llama *trofozoito tardío*.

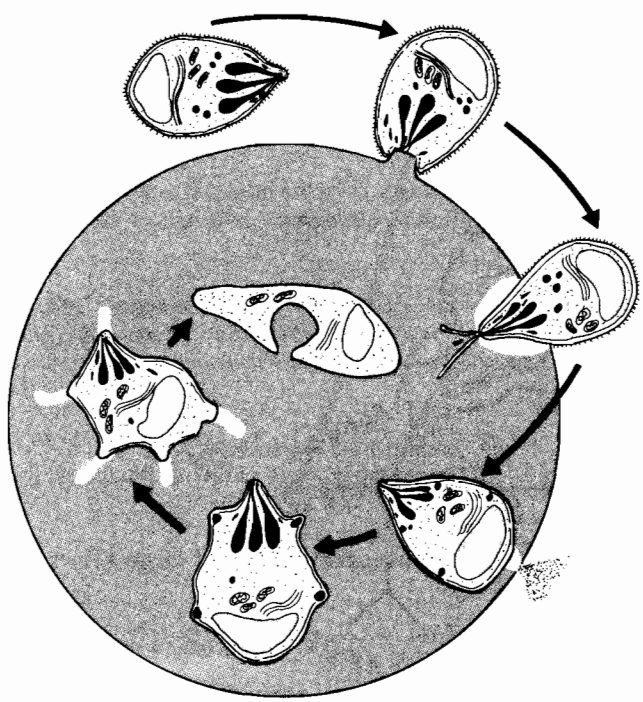


Fig. 76-4. Invasión de un hematíe por un merozoito.

Cuando el núcleo del trofozoito tardío se divide en varios fragmentos (*esquizogonia eritrocítica*), pero sin división del citoplasma, se llama *esquizonte inicial*. Posteriormente se produce la división del citoplasma, y se constituye así un *esquizonte tardío*. Los esquizontes tardíos contienen 6-32 elementos pequeños y redondeados (merozoitos), cuyo número exacto es característico de cada especie. Los esquizontes tardíos reciben también el nombre de *formaciones en roseta*, pues existe siempre una masa citoplásmica residual con gránulos de pigmento, alrededor de la cual se sitúan los merozoitos.

Cuando el proceso de maduración del esquizonte finaliza, se produce la rotura del hematíe y liberación de los merozoitos en el torrente circulatorio. Algunos de estos merozoitos, así como los restos citoplásmicos del parásito, son fagocitados por los macrófagos y células endoteliales libres de los vasos sanguíneos. Los restantes invaden de nuevo otros eritrocitos. Esta esquizogonia eritrocítica se repite varias veces en el transcurso de la infección, y se condiciona un aumento progresivo de la parasitemia. El proceso completo requiere 72 horas para *P. malariae* y 48 para las otras especies, si bien en la fase inicial de la infección y en infecciones por *P. falciparum* puede no presentarse esta periodicidad.

En el interior de algunos hematíes, los merozoitos se diferencian en formas sexuales de 13-16 μm, llamadas *macrogametocitos*, y de 9-11 μm, o *microgametocitos*. Los gametocitos poseen una membrana trilaminar y un núcleo con nucléolo denso y crecen sin que el núcleo se divida, hasta madurar por completo. Los gametocitos maduros contienen numerosos gránulos y son diferentes según la especie.

Desarrollo en el mosquito: fase sexuada

La hembra del mosquito *Anopheles*, al tomar sangre de un huésped con parásitos circulantes, ingiere las formas

asexuadas. En el estómago del artrópodo, el microgametocito sufre varias divisiones nucleares hasta dar 4-8 elementos, cada uno de los cuales se transforma en una estructura de 20-25 µm de longitud, de morfología similar a los espermatozoides, que recibe el nombre de *flagelo, microgameto* o *gameto masculino*. Este proceso de «exflagelación» se realiza en pocos minutos y puede incluso observarse en sangre fresca al microscopio. Mientras tanto, el macrogametocito se transforma en *macrogameto* o *gameto femenino*, que posee una pequeña prolongación por la cual va a penetrar el microgameto y realizarse la *fertilización*. El resultado de ésta es la formación de un *zigote*, inicialmente redondeado, que a las 18-24 horas aumenta de tamaño en longitud y adquiere movilidad (*ooquineto*). El ooquineto, que tiene una longitud de 18-24 µm y está dotado de una estructura polar con una pequeña protuberancia contráctil, atraviesa la pared del estómago y se transforma en una masa esférica de membrana elástica, llamada *ooquiste*.

El número de ooquistes en la pared del estómago oscila de unos pocos a varios centenares. El ooquiste aumenta de tamaño y da lugar a un cuerpo semitransparente y redondo, de 40-80 µm, con gránulos de pigmento. A medida que va aumentando de tamaño, su núcleo se divide y surgen los *esporoblastos*, que se transforman más tarde en *esporozoitos*.

Los esporozoitos son de aspecto fusiforme, de 10-15 µm de longitud, con núcleo ovoide central y extremos afilados. Poseen una débil membrana externa, un citostoma y casquete apical con anillo polar, y un conoide en el polo anterior. Del conoide parten hacia atrás unos microtúbulos subpeliculares y los micronemas (estructuras similares a los toxonemas de *Toxoplasma*). Estos elementos, junto a la secreción de una enzima proteolítica, favorecerán su penetración en los hepatocitos.

Cuando el ooquiste estalla, libera los esporozoitos en la cavidad general del mosquito, que emigran hasta las glándulas salivales, y se cierra así esta fase de esporogonia, que requiere aproximadamente 10 días. Los esporozoitos son las formas infectantes.

En las tablas 76-1 y 76-2 se recogen las características más importantes de las cuatro especies.

PATOGENESIS

En el desarrollo y evolución del paludismo tienen especial importancia la resistencia natural e inmunidad adquirida.

Resistencia natural al paludismo

Es principalmente de tipo genético y puede ser debida a dos causas fundamentales:

1. Ausencia de receptores específicos de especie en la superficie del eritrocito (glicoproteína Duffy para *P. vivax*).
2. Presencia de factores intraeritrocitarios desfavorables para el desarrollo del parásito, como sería el bajo nivel intraeritrocitario de ATP y las carencias nutricionales. *P. falciparum* no se multiplican en presencia de hemoglobinas S, C y E, talasemia y cuadros con déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa.

Tabla 76-1. Características morfológicas de las especies de Plasmodium

	Eritrocitos infectados	Trofozoitos iniciales (anillos)	Trofozoitos tardíos	Esquizontes maduros	Gametocitos
P. vivax	Infección monoparasitaria Aumentados de tamaño Forma redondeada Color pálido Granulaciones (Schüffner) abundantes	Anillos finos Pequeña masa de cromatina fina, única o doble A veces existen formaciones marginales	Grandes y de forma ameboide	12-24 merozoitos	Redondos u ovales Grandes y aumentan el tamaño del hematíe
P. ovale	Infección monoparasitaria Aumentados de tamaño Forma oval Color pálido Granulaciones (Schüffner) abundantes	Anillos gruesos Masa cromatínica grande y muy bien definida No existen formaciones marginales	Pequeños y de forma redondeada	6-14 merozoitos	Redondos u ovales Pequeños
P. malariae	Infección múltiple poco frecuente Tamaño normal o más pequeño Forma redondeada Color normal Granulaciones (Ziemann) escasas	Anillos gruesos Masa cromatínica grande y a menudo en el interior del anillo No existen formaciones marginales	Pequeños y de forma transversal en banda	6-12 merozoitos	Redondos u ovales Pequeños
P. falciparum	Frecuente infección múltiple Tamaño normal Forma redondeada Color normal Granulaciones (Maurer) escasas	Anillos finos Pequeña masa de cromatina única o doble Formaciones marginales frecuentes	Pequeños y de forma redondeada	6-32 merozoitos	En forma de banda o semiluna Más largos que los hematíes

Tabla 76-2. Características clínicas del paludismo

Especie	*Plasmodium vivax*	*Plasmodium ovale*	*Plasmodium malariae*	*Plasmodium falciparum*
Fase eritrocítica (días)	8	9	13	5-6
Período de incubación (días)	13 (12-17)	17 (16-18)	28 (18-40)	12 (9-14)
Fase exoeritrocítica secundaria	Presente	Presente	?	Ausente
Número de merozoitos en el esquizonte hepático	10.000	15.000	2.000	40.000
Fase eritrocítica (horas)	48	49-50	72	48
Gravedad del primer ataque	Leve o grave	Leve	Leve	Grave en no inmunes
Recaídas	Tardías	Tardías	?	Tempranas
Duración de la infección (años)	2-5	Probablemente, la misma que *P. vivax*	5-30	1-2

Inmunidad adquirida

Es específica de especie y probablemente de cepa. No se descarta, además, la posibilidad de que, al igual que ocurre en cepas animales, existan variaciones antigénicas. La inmunidad adquirida tiene, por tanto, un escaso papel protector. La adquirida de forma pasiva (maternal) se denomina «inmunidad residual». La activa es consecuencia de infecciones asintomáticas en zonas endémicas («premunición») o adquirida por padecimiento de una infección clínica.

La inmunidad adquirida en el transcurso de una infección es en parte responsable del cese temporal de ésta y puede contribuir, por sí sola, a acabar con el proceso. La respuesta inmunitaria se produce fundamentalmente frente a las formas asexuadas eritrocíticas. Los gametocitos y formas exoeritrocíticas no producen la formación de anticuerpos, aunque estas últimas sean capaces de reaccionar con ellos. Los esporozoitos son inmunógenos experimentalmente, pero en infecciones humanas se desconoce este hecho.

La mayor parte de las inmunoglobulinas sintetizadas (IgM, IgG e IgA) en el curso de la infección palúdica, como consecuencia del estímulo de parásitos intraeritrocitarios, carecen de actividad protectora.

Esta protección comienza a manifestarse a la segunda semana del comienzo del cuadro clínico y produce una disminución del grado de parasitemia, si bien inicialmente no existe una correlación muy exacta entre el grado de parasitemia y la sintomatología. El papel de la inmunidad celular no está bien establecido aunque, de todas maneras, no parece ser importante.

Los esporozoitos, formas exoeritrocíticas y gametocitos no producen lesiones en el organismo humano; no obstante, los dos primeros pueden ocasionar algún pequeño cambio patológico en el hígado.

El hecho principal en la patogénesis del paludismo es la lisis de los hematíes parasitados y no parasitados, pues produce la descarga en el torrente circulatorio de parásitos, pigmentos, restos celulares y probablemente material tóxico no identificado, que producirá una serie de hechos inmediatos, tales como fiebre, anemia, hipoxia tisular, estímulo de la fagocitosis, pigmentación cutánea y de otros órganos, degeneración parenquimatosa visceral y una serie de fenómenos inmunopatológicos.

Fiebre

Se origina por liberación de pirógenos endógenos por los leucocitos, al ser estimulados por los elementos que quedan en libertad al romperse el esquizonte hemático. Este hecho se produce de forma periódica y origina paroxismos febriles cada 48 ó 72 horas, según la especie.

La fiebre provoca vasodilatación y ésta, a su vez, hipovolemia, con el consiguiente aumento de la secreción de ADH y aldosterona.

Anemia

Se debe fundamentalmente a la destrucción de eritrocitos parasitados (esquizontes hemáticos). Sin embargo, esto no explica por sí solo el grado de anemia. Existen otras causas responsables de la destrucción de hematíes parasitados y no parasitados, como es el secuestro de eritrocitos por parte del bazo, fijación de complejos antígeno-anticuerpo en la superficie de los hematíes que activan el complemento y producen la lisis, y quizá fenómenos de lisis autoinmune, aunque el test de Coombs es habitualmente negativo.

Hipoxia tisular

Su causa principal es la anemia. En las infecciones por *P. falciparum* se producen, además, otros hechos que provocan un bloqueo de los capilares, tales como la adherencia a ellos de hematíes que contienen esquizontes (hematíes pegajosos o *sticky cells*) y fenómenos de coagulación intravascular. A este proceso obstructivo se suma posteriormente la lesión del endotelio capilar, que inicialmente ocasiona edema y hemorragias tisulares y después la necrosis y reacción granulomatosa de los tejidos afectados. Estos hechos, que se producen sobre todo en infecciones por *P. falciparum*, son particularmente importantes en cerebro y pulmón.

Estímulo de la fagocitosis

Los parásitos intraeritrocitarios, pigmentos y restos celulares, una vez liberados, estimulan la proliferación e hiper-

plasia del SRE (fundamentalmente hígado y bazo). Surge, así, una relativa monocitosis y signos de hiperesplenismo (anemia, neutropenia y trombocitopenia). En fases más avanzadas aparecen áreas de fibrosis en los órganos antes citados.

Pigmentación

El exceso de hierro no utilizado para formar nueva hemoglobina se deposita como hemosiderina en piel y otros órganos (cerebro, hígado, bazo y riñón).

Degeneración de órganos parenquimatosos

Su causa no se conoce bien; probablemente sea debida a la acción conjunta de varios factores, como hipoxia, edema, depósito de inmunocomplejos, y quizás a la acción directa de algún elemento tóxico no identificado. Es más frecuente en infecciones por *P. falciparum* y se produce sobre todo en cerebro, pulmón, miocardio e hígado.

Fenómenos inmunopatológicos

Se trata de una reacción de hipersensibilidad tipo III por formación de inmunocomplejos circulantes. Son responsables de anemia, malaria cerebral (*P. falciparum*), nefropatías agudas (*P. falciparum*), nefropatías crónicas (*P. malariae*), fiebre biliosa hemoglobinúrica (*P. falciparum*) y síndrome de esplenomegalia tropical (*P. vivax* y *P. malariae*).

En individuos de áreas endémicas existe una alta prevalencia de autoanticuerpos, tales como factor reumatoide, anticuerpos antinucleares, anticuerpos heterófilos y anticuerpos frente al músculo cardiaco. Se trata de anticuerpos cuyo papel no se conoce con certeza.

MANIFESTACIONES CLINICAS

El curso clínico del paludismo se caracteriza por la aparición de accesos febriles, con tendencia a la periodicidad, que alternan con períodos apiréticos (fig. 76-5).

Período de incubación

Corresponde al tiempo que existe entre la infección y la aparición de los síntomas clínicos. Su duración oscila entre 9 y 40 días y varía en razón de la especie responsable. Es más corto en infecciones por *P. falciparum*, y más largo en las producidas por *P. malariae* y determinadas cepas de *P. vivax* aisladas en el Norte de Europa y Rusia, para las que se ha propuesto el nombre de *P. vivax hibernans*.

El período de incubación normalmente es más largo que el «período prepatente» (tiempo transcurrido entre la infección y el primer hallazgo de parásitos en sangre), que es diferente para cada especie: para *P. malariae*, 3-4 días; para *P. vivax* y *P. falciparum*, 11-15 días, y para *P. ovale*, 14-16 días. En muy pocas ocasiones, los síntomas anteceden a la presencia de parásitos en sangre.

Acceso o paroxismo palúdico

Puede ir precedido de un «período prodrómico» con dolor torácico y abdominal, artralgias, náuseas, vómitos e incluso fiebre, aunque sin carácter de periodicidad.

El primer acceso palúdico señala el final del período de incubación y consta de tres etapas o fases bien diferenciadas:

Fase fría o de escalofrío violento

Los síntomas de esta fase reflejan la existencia de una descarga simpática con vasoconstricción periférica. Se caracteriza por escalofríos, cefalea frontal, mialgias, pulso rápido y débil, piel pálida, fría y seca con aspecto de «carne de gallina» (cutis anserina), cianosis de labios y dedos, a veces vómitos y, en niños, convulsiones. Dura de 1 a 2 horas.

Fase de calor o período febril

La temperatura corporal sube a 41 °C. Se produce una intensa vasodilatación, la piel está ardiente y seca, y la cara, congestionada. Hay cefalea intensa, taquicardia, taquipnea, dolor abdominal, náuseas, vómitos y en ocasiones tos y delirio. Es frecuente la presencia de hipotensión ortostática

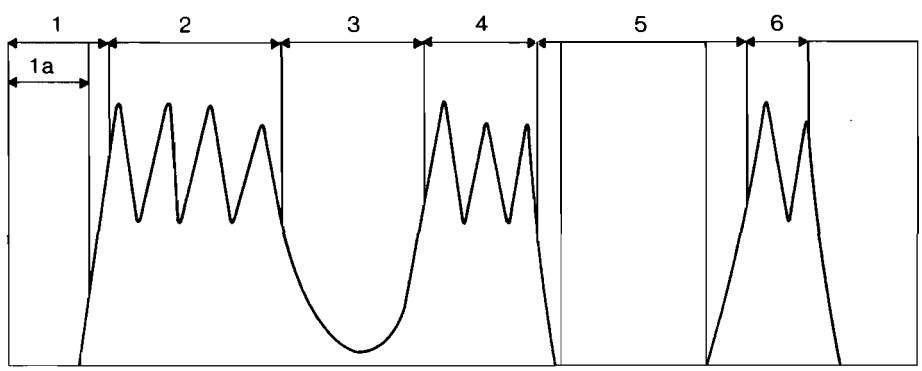


Fig. 76-5. Evolución clínica del paludismo.

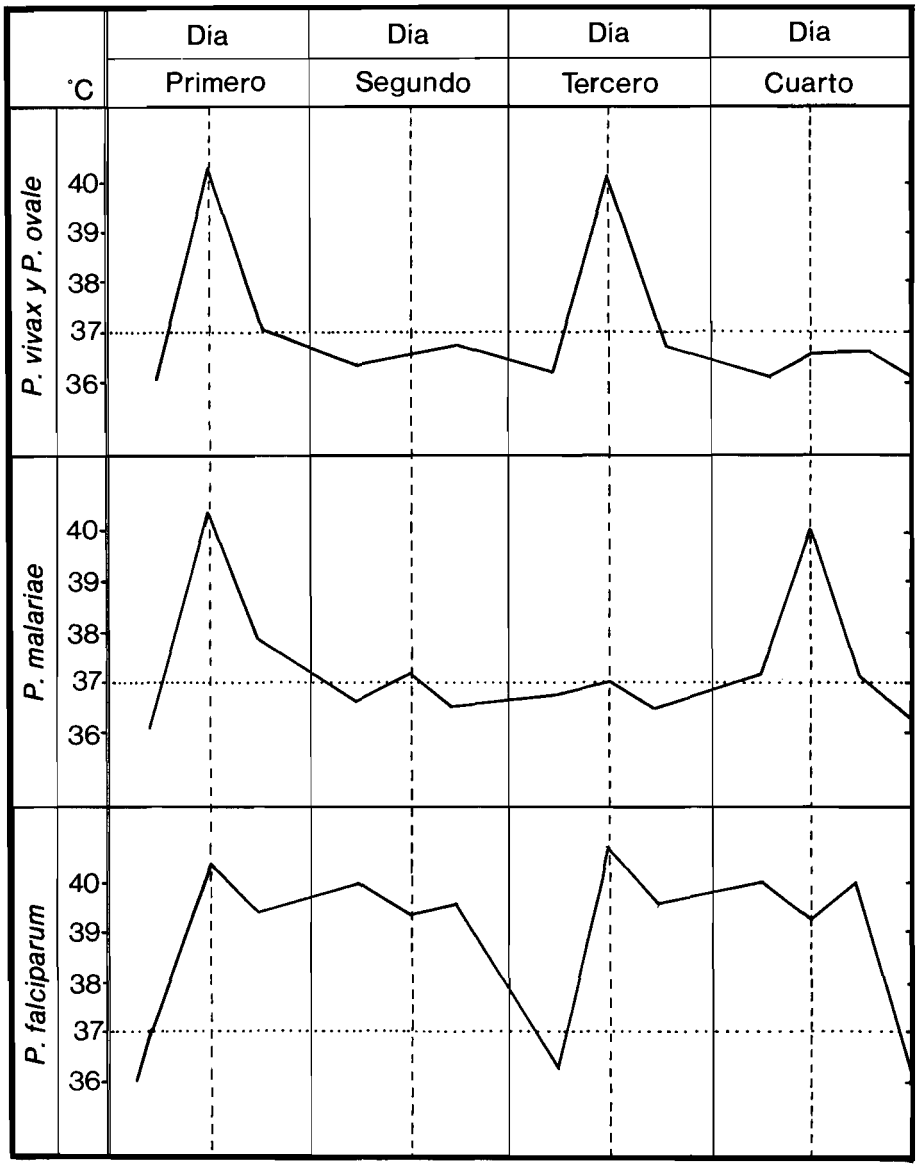


Fig. 76-6. Diagrama de los accesos palúdicos.

como consecuencia de la vasodilatación. Su duración oscila entre 2 y 6 horas.

Fase de sudoración

La temperatura corporal desciende hasta límites normales y el enfermo presenta una intensa diaforesis y poliuria. Este período tiene una duración de 2-4 horas.

A este primer acceso siguen otros durante un período de tiempo no inferior a 2 semanas. Entre un acceso y otro, el paciente está asintomático, aunque en las infecciones por *P. falciparum* la fiebre puede persistir. Los accesos se presentan a intervalos regulares de tiempo: cada 48 horas en los casos debidos a *P. vivax*, *P. falciparum* y *P. ovale* (tercianas) y cada 72 horas en infecciones por *P. malariae* (cuartana) (fig. 76-6). No obstante, a veces no existe periodicidad, sobre todo al principio del cuadro clínico. Además, la mayor parte de las infecciones por *P. falciparum* no siguen el ritmo de terciana, los accesos febriles pueden aparecer diariamente e incluso es posible que exista fiebre continua.

Sin tratamiento, la enfermedad pasa a mostrar un curso crónico y suele curar al desarrollarse la inmunidad específica varios años más tarde (5 años en casos de paludismo por *P. vivax* y *P. ovale* y 20-30 años en cuadros por *P. malariae*). El pronóstico del paludismo por *P. falciparum* es más sombrío, dado que, aunque la curación espontánea pueda presentarse al cabo de 1 año, lo normal es que el enfermo fallezca antes de este tiempo.

Recaídas

Es la reaparición de los síntomas de la parasitemia después de los primeros accesos febriles. Las recaídas a corto plazo o tempranas (antes de las 8 semanas del primer acceso) se llaman «recrudescencias» y se presentan en parasitaciones por *P. falciparum*. Las recaídas tardías o a largo plazo

(después de las 24 semanas) reciben el nombre de «recurrencias» y se presentan en infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*.

Examen físico y datos de laboratorio

No existen adenopatías, pero sí hepatoesplenomegalia. La palpación esplénica si se realiza de forma violenta es peligrosa, por posible rotura visceral. La piel adquiere un tinte ocre y terroso, y son frecuentes la urticaria, «rash» petequial e incluso las hemorragias.

Hay anemia hemolítica normocrómica y normocítica, al menos al principio, leucopenia con granulocitopenia y linfopenia (relativa o absoluta), monocitosis y trombocitopenia. En caso de nefropatía existe proteinuria. Es frecuente el hallazgo de pigmento en el interior de los monocitos.

Complicaciones

Se presentan principalmente en parasitaciones por *P. falciparum*.

Paludismo cerebral

Es muy grave y sólo se presenta en infecciones por *P. falciparum*. En su patogenia están envueltos la isquemia, el edema y la formación de inmunocomplejos. Cursa con cefalea intensa, convulsiones, signos neurológicos focales, somnolencia y coma. Sin tratamiento es rápidamente mortal.

Renales

La forma más grave, de posible patogénesis inmunológica, es la «fiebre biliosa hemoglobinúrica», que se presenta en cuadros por *P. falciparum*. La glomerulonefritis aguda (*P. falciparum*) es transitoria y reversible, en tanto que la crónica (*P. malariae*) es de curso progresivo. Ambas son de origen inmunológico.

Pulmonares

Se manifiestan en forma de edema pulmonar, debido a un aumento de la permeabilidad vascular, coagulación intravascular y microembolias de hematíes parasitados.

Paludismo gastrointestinal

Lo más llamativo es el predominio de síntomas gastrointestinales. Es propio del paludismo por *P. falciparum*.

Síndrome de esplenomegalia tropical

De posible patogenia inmunológica, se caracteriza por la existencia de esplenomegalia, anemia, linfocitosis y aumento de IgM. Su etiología palúdica no está bien establecida, pero el hecho de que se presente en áreas donde las infecciones por *P. vivax* y *P. malariae* son frecuentes hace suponer que así sea.

Algid malaria

Cuadro muy similar al shock quirúrgico. Aparece en infecciones por *P. falciparum* y se debe a una insuficiencia adrenal.

DIAGNOSTICO

Debe sospecharse paludismo ante cualquier cuadro febril observado en personas que residen en áreas endémicas o que han viajado a ellas recientemente.

Directo

Se basa en la demostración de parásitos en sangre periférica, obtenida del lóbulo de la oreja o yema de los dedos.

Aunque los parásitos aparecen en mayor cantidad en la circulación durante el acceso febril, lo más importante es obtener varias muestras sanguíneas diarias. No debe olvidarse que a veces los síntomas anteceden en algunos días a un nivel de parasitemia detectable.

La búsqueda de parásitos puede hacerse por «gota gruesa» o «frotis» teñidos por tinción de Giemsa. Otras tinciones válidas son las de Wright, Leishman y la rápida de Field.

La técnica de gota gruesa es el mejor método para detectar la presencia de parásitos, al poderse examinar una muestra de sangre mayor a la del frotis. Como los hematíes se lisan, no sirve para el diagnóstico de especie. Para esta finalidad debe emplearse el frotis. (Las características diferenciales de las especies se relacionan en la tabla 76-1.)

Debe realizarse siempre una cuantificación de la parasitemia en la gota gruesa (número de parásitos en relación con el número de leucocitos) o en el frotis (número de hematíes parasitados por campo). La cuantificación permite conocer el grado de parasitemia y la respuesta al tratamiento.

Si las primeras pruebas son negativas, el estudio se repite varias veces. Debe igualmente recordarse que la presencia de parásitos es signo de infección, pero no siempre indica enfermedad, pues en zonas endémicas algunas personas presentan parásitos sanguíneos sin enfermedad clínica.

Por la importancia que tiene para el tratamiento, es muy importante diferenciar las infecciones por *P. falciparum* de las producidas por las otras especies, pues éstas pueden tratarse con cloroquina. Las dificultades son mayores si se trata de infecciones mixtas.

Indirecto

Las pruebas inespecíficas, como la de «floculación melánica», basada en el incremento de inmunoglobulinas, y la búsqueda de factor reumatoide, anticuerpos heterófilos y anticuerpos antinucleares, dan falsos positivos, particularmente la primera.

Las reacciones serológicas específicas apenas son válidas para el diagnóstico por sí solas, pues no detectan las bajas cantidades de anticuerpos que existen en la primera fase de

Tabla 76-3. Pruebas serológicas más utilizadas en el paludismo

	Aplicación*	Tipos de antígeno	Anticuerpos detectados	Sensibilidad	
				Detección de antígeno	Detección de anticuerpo
Inmunoprecipitación	A, C	Esquizontes eritrocíticos y antígenos solubles	IgG, IgM	Buena	Pobre
Inmunofluorescencia	A, B, C	Esquizontes eritrocíticos	IgG, IgM, IgA	Media	Buena
Hemaglutinación indirecta	A	Esquizontes eritrocíticos	–	–	Buena
Contrainmunoelectroforesis	D	Esquizontes eritrocíticos y antígenos solubles	–	–	–
Radioinmunoensayo	C	Antígenos solubles y complejos Ag-Ac solubles	–	Alta	Alta
ELISA	A, B	Esquizontes eritrocíticos	–	–	–
Inhibición de merozoitos	C	Merozoitos	IgM, IgG	Buena	–

*A, estudios epidemiológicos; B, de ayuda para el diagnóstico; C, investigación; D, sin determinar.

la enfermedad. Son más útiles para estudios epidemiológicos, investigación de donantes y como ayuda para el diagnóstico. Los antígenos que emplean normalmente son esquizontes hemáticos y antígenos solubles heterólogos (*P. brasilianum, P. cynomolgi*, etc.) u homólogos (plasmodios humanos). En la actualidad se tiende a emplear estos últimos, dado que por cultivo continuo de *P. falciparum* se obtienen grandes cantidades de antígeno.

En la tabla 76-3 se recogen las pruebas que pueden ser usadas. La inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta e inmunodifusión son, por este orden, las más empleadas y tienen un curso similar (fig. 76-7).

La inmunofluorescencia indirecta permite detectar por separado IgG e IgM, y se consideran positivos los títulos de 1:20 ó superiores. La hemaglutinación indirecta se positiviza un poco más tarde y son significativos los títulos de 1:40.

La reacción de inhibición de los merozoitos mide la capacidad que tienen éstos de reinvadir eritrocitos. Es la única que sirve para estudiar los anticuerpos protectores.

TRATAMIENTO

Además de las medidas generales y de sostén, la base del tratamiento es la quimioterapia.

Aunque son muchos los quimioterápicos que pueden emplearse, en la práctica quedan limitados a un número bastante reducido. Tradicionalmente se clasifican de acuerdo con la forma parasitaria sobre la que tienen actividad.

Esquizonticidas

Reciben también el nombre de «fármacos curativos», pues destruyen las formas asexuadas eritrocíticas. Son los

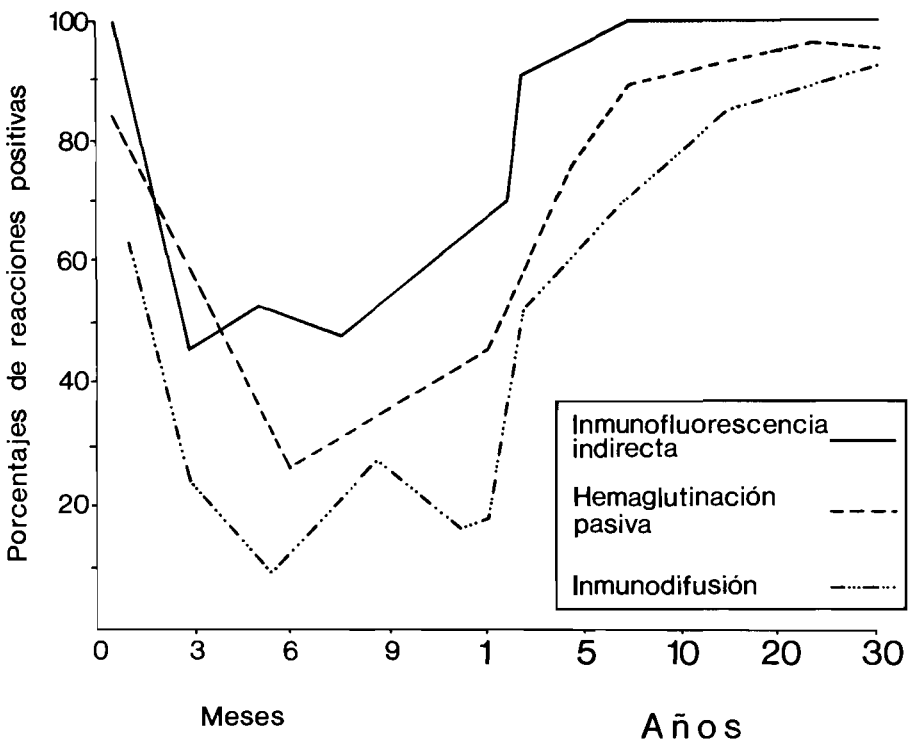


Fig. 76-7. Serología del paludismo.

más importantes e incluyen las 4-aminoquinoleínas (cloroquina), quinina, pirimetamina, sulfamidas, tetraciclinas y mefloquina.

Esquizonticidas tisulares

Se llaman también quimioterápicos de «cura radical», ya que actúan sobre las formas exoeritrocíticas y evitan las recaídas. Están representados por las 8-aminoquinoleínas (primaquina). Se emplean para evitar las recaídas en infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*.

Profilácticos o supresores

No existen quimioterápicos que destruyan los esporozoitos, por lo que en este grupo se incluyen aquellos que tienen acción sobre las formas exoeritrocíticas (8-aminoquinoleínas) y los esquizonticidas o curativos (cloroquina), que, aunque son ineficaces sobre aquéllas, destruyen las formas asexuadas eritrocíticas y pueden evitar la aparición del cuadro clínico si se emplean durante el período de incubación.

Gametocidas

Son activos sobre las formas sexuadas eritrocitarias. Los más importantes son las 8-aminoquinoleínas.

Esporonticidas

Inhiben el desarrollo del ooquiste en el estómago del mosquito. Son las biguanidinas (cloroguanidina) y la pirimetamina.

El tratamiento se realizará teniendo en cuenta que el quimioterápico de elección para el tratamiento de todas las infecciones, excepto las debidas a *P. falciparum* resistentes, es la cloroquina.

El tratamiento se llevará a cabo de acuerdo con las siguientes directrices:

1. En las formas no complicadas producidas por *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. falciparum* sensible a cloroquina, se utilizará el fosfato de cloroquina por vía oral. Si el paciente no tolera esta vía, se empleará clorhidrato de cloroquina por vía intramuscular.
2. En los cuadros graves por *P. falciparum* sensible a cloroquina, se administrará clorhidrato de cloroquina por vía intravenosa, diluido y lentamente.
3. Si el agente responsable es *P. falciparum* resistente a cloroquina, el tratamiento debe realizarse asociando sulfato de quinina y pirimetamina.
4. En las infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*, después del tratamiento inicial con cloroquina, se administrará primaquina (14 días, oral) para evitar las recaídas producidas por las formas latentes exoeritrocitarias hepáticas. Como la primaquina es hemolítica para los eritrocitos, que son deficitarios en glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, deberá comprobarse previamente el nivel de esta enzima.

EPIDEMIOLOGIA

Aunque el paludismo es una enfermedad de distribución universal, con casos descritos entre los 64° de latitud norte y 32° de latitud sur, las zonas de mayor prevalencia son las tropicales, subtropicales y templadas de Asia, Africa y América.

P. vivax es la principal especie en regiones subtropicales y templadas, mientras que *P. falciparum* lo es en zonas tropicales. Prácticamente, todas las cepas de esta última especie aisladas del sudeste de Asia y algunas de las de la costa oeste de América del Sur y del este de Africa son resistentes a la cloroquina.

Reservorio

Es casi exclusivamente humano y está constituido por enfermos clínicos o asintomáticos y portadores de gametocitos después de haber curado clínicamente. Los portadores más frecuentes son los niños. El reservorio animal apenas tiene importancia, aunque existen casos de paludismo en chimpancés por *P. malariae* y se sabe que otras especies productoras de paludismo en animales (principalmente simios) pueden transmitirse al hombre de forma experimental o por artrópodo vector.

Mecanismo de transmisión

La infección puede transmitirse de forma congénita o accidental por transfusiones de sangre o jeringas contaminadas, fundamentalmente en drogadictos. Sin embargo, el principal mecanismo es la picadura de la hembra de mosquitos del género *Anopheles*.

El género *Anopheles* incluye alrededor de 450 especies, de las que aproximadamente 60 son transmisoras de paludismo al hombre. Son propias de zonas tropicales y subtropicales, aunque también se encuentran en zonas templadas. No se encuentran en altitudes superiores a los 2.000 m. En el Mediterráneo, las especies más frecuentes son *A. labranchiae*, *A. sacharovi*, *A. superpictus*, *A. claviger*, *A. hispanicola* y *A. messeae*.

Los machos son fitófagos, mientras que las hembras son hematófagas. Estas últimas, que durante el día duermen en grietas de paredes, lonas y puertas, se alimentan de sangre de mamíferos, especialmente al atardecer. Buscan lugares oscuros con temperatura y humedad relativa elevadas: establos, dormitorios, gallineros, etc.

Las hembras ponen los huevos (de 0,5 mm de diámetro) en aguas tranquilas, claras, con vegetación abundante y poco soleadas. Tienen como característica principal el poseer flotadores laterales. De los huevos sale la larva, que tiene un abdomen con nueve segmentos. Para respirar se sitúan paralelas a la superficie del agua. La hembra adulta, que vive de 3-4 semanas, tiene los palpos tan largos como la trompa y se sitúa en posición de «picado de avión» sobre la piel y otras superficies. El ciclo completo (huevo, larva, pupa y adulto) se realiza en 7 días a 31 °C y en 20 a 20 °C.

Para que una hembra sea infectante, han de transcurrir al menos 12 días desde que ingiere los gametocitos hasta que pique a una persona sana.

Factores epidemiológicos

Para que exista paludismo autóctono en una región geográfica determinada, deben existir unos factores primarios (hombre enfermo o portador, mosquito *Anopheles* y población susceptible) y unos factores secundarios de ambiente y temperatura adecuados, inmunidad, etc.

Estos factores constituyen lo que se llama anagrama de Russell: (X + Y + Z) bepti.

De la existencia total o no de factores primarios (hombre enfermo, portador [X], mosquito *Anopheles* [Y] y población susceptible [Z]) y secundarios (biología del hombre y mosquito [*b*], ambiente o *environnement* [e], especie de *Plasmodium* [*p*], temperatura adecuada [*t*] e inmunidad de la población [*i*]) dependerá la presencia o ausencia de paludismo.

PROFILAXIS

Se basa en la puesta en marcha de tres tipos de medidas: esterilización de portadores de gametocitos, lucha contra el mosquito *Anopheles* y protección de la población sana.

Esterilización de portadores de gametocitos

Se consigue con la administración de fármacos gametocidas o esporonticidas a todos los palúdicos de años anteriores en campañas de primavera (profilaxis de la onda primaveral), durante 2 ó 3 años, para evitar la infección de los mosquitos.

Lucha contra el mosquito

Es el punto más importante de la lucha antipalúdica. Debe realizarse de forma conjunta sobre las larvas, mosquitos adultos y ambiente palúdico.

Las medidas de actuación sobre las larvas van encaminadas a conseguir su destrucción, mediante la implantación en las colecciones de agua, donde normalmente se encuentran, de vegetales de los géneros *Lemma* o *Characea*, peces del género *Gambusia* y aplicación de insecticidas. El petroleado de charcas y similares, y el favorecer el movimiento y circulación de las aguas estancadas son medidas igualmente útiles.

Los mosquitos adultos pueden combatirse con insecticidas de acción persistente (DDT, HCH, Dieldrin y organofosforados) aplicados sobre paredes y techos de lugares oscuros donde existan hombres o animales, y en los dormitorios antes de acostarse. Debe recordarse que existen resistencias a estos insecticidas.

Sobre el ambiente palúdico se actúa con medidas de saneamiento de zonas pantanosas, terrenos encharcados, vivienda, etc.

Protección de la población sana

Se consigue colocando mallas metálicas o de nailon, impregnadas con insecticidas, en las ventanas de la vivienda, empleando repelentes del tipo de la dietiltoluamida o dibutilftalato en las personas más expuestas y con quimioprofilaxis. Las medidas de inmunización activa están en fase experimental.

Quimioprofilaxis

Se realiza de la siguiente forma:

1. Como profilaxis de la infección palúdica de todas las especies, excepto las de *P. falciparum* resistentes, se emplea el fosfato de cloroquina, administrado una vez a la semana, el mismo día de ésta, desde una semana antes de viajar a zonas endémicas hasta 6 semanas después de haberlas abandonado.
2. La profilaxis del paludismo por cepas de *P. falciparum* resistentes es problemática, pues los fármacos disponibles apenas tienen actividad. Aunque existen resistencias, se emplea la asociación de pirimetamina y sulfadoxina por vía oral con la misma pauta de administración recogida en el apartado anterior.
3. Aquellas personas que regresen de zonas endémicas de *P. vivax* y *P. ovale* pueden recibir, además del fosfato de cloroquina y siempre que no tengan déficit eritrocitario de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, fosfato de primaquina durante 14 días.
4. Las que residen habitualmente en áreas endémicas no necesitan quimioprofilaxis, pues van adquiriendo inmunidad de forma progresiva.

Inmunización activa

Aunque se dispone de algunos datos sobre la constitución antigénica de los plasmodios humanos, las medidas de inmunoprofilaxis activa están en fase experimental. Los antígenos, más de 30, son proteínas, glicoproteínas y lípidos asociados a la membrana, con peso molecular de 60.000-90.000. Pueden ser solubles o no. Algunos son cruzados con otros protozoos, principalmente *Babesia*, y otros comunes a las cuatro especies. No obstante, poseen también antígenos específicos de especie, cepa, e incluso de algún estadio de desarrollo. Es probable, además, la existencia de variaciones antigénicas. Los mejor conocidos son los de *P. falciparum*: antígeno L (lábil), que se destruye a 56 °C en 30 minutos; R (resistente), que sólo se inactiva por ebullición, y S (estable), que es soluble y resiste la ebullición durante 5 minutos.

La inmunización activa pretende bloquear la penetración de los esporozoitos en el organismo humano y su posterior multiplicación hepática, impedir el desarrollo intraeritrocitario del parásito o destruir los gametocitos.

Los ensayos se han efectuado en animales y, en algunos casos, en voluntarios humanos. Los trabajos más importantes se han realizado con esporozoitos irradiados de *P. berghei* y *P. falciparum*, merozoitos de *P. knowlesi* y *P. falciparum* junto con adyuvantes, gametocitos de varias especies y la proteína de la membrana de hematíes parasitados por *P. lophurae*. Con esporozoitos irradiados se ha conseguido protección humana durante unos meses.

BIBLIOGRAFIA

Barriga, O.: The Immunology Parasitic Infections, 104-122. University Park Press, Baltimore, 1981.

Brown, H. W., y Neva, F. A.: Basic Parasitology, 5.ª ed., 78-98. Appleton-Century-Crofts, Norwalk, 1983.

Bruce-Chwatt, L. J.: Essential Malariology. William Heineman, London, 1980.
Cohen, S.; Butcher, G. A.; Mitchell, G. H.; Deams, J. A., y Langhorne, J.: Acquired immunity and vaccination in malariae. Am. J. Trop. Med. Hyg., 26, 223-232, 1977.
Dietrich, M., y Kern, P.: Malaria. Antibiotics Chemother., 30, 224-256, 1981.
Friedman, M. J., y Trager, W.: The biochemistry of resistance to malaria. Sci. Am., 244, 154-164, 1981.
Houba, V.: Immunopathology mechanisms in protozoal infections. Am. J. Trop. Med. Hyg., 26, 233-239, 1977.
Kilejian, A.: Histidine-rich protein as a model malaria vaccine. Science, 201, 922-924, 1978.
Miller, L. H.: Current prospects and problems for malaria vaccine. J. Infect. Dis., 135, 855-864, 1977.
OMS: Immunology of malaria. Bull. WHO, 57 (Supl. 1), 11-290, 1979.
Sun, T.: Malaria. En Pathology and Clinical Features of Parasitic Diseases, 29-39. Masson, New York, 1982.
Voller, A., y Houba, V.: Malaria. En Houba, V. (dir.): Immunological Investigation of Tropical Parasitic Diseases, 6-31. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1980.

Capítulo 77

Toxoplasma, Pneumocystis, Isospora, Sarcocystis y Cryptosporidium

José Angel García-Rodríguez

Toxoplasma gondii

Los toxoplasmas son protozoos intracelulares que pueden parasitar a múltiples especies animales, incluido el hombre. Ampliamente difundidos en la naturaleza, se han aislado a partir de más de 200 especies de mamíferos (félidos, carnívoros domésticos, rumiantes, cerdo, roedores domésticos y salvajes) y aves.

En el hombre, la parasitación se produce la mayor parte de las veces de forma asintomática; por tanto, la infección es la regla y la enfermedad la excepción.

Su situación taxonómica es confusa. Parece ser un protozoo con características similares a otros encuadrados en los géneros *Besnoitia* y *Hammondia*.

En la actualidad, la taxonomía más aceptada es la siguiente: *phylum Apicomplexa;* clase *Sporozoea,* subclase *Coccidia,* y género *Toxoplasma.*

T. gondii constituye la única especie del género *Toxoplasma* en el que todas las cepas parecen ser similares antigénicamente.

ASPECTOS HISTORICOS

Podemos distinguir cuatro etapas claramente definidas:

Etapa etiológica

Comienza con los trabajos de Laveran, en 1900, quien describe en las aves un protozoo, que por sus características morfológicas se considera hoy que se trataba de un toxoplasma, y, sobre todo, con los de Nicolle y Manceaux, quienes, en 1908, aíslan en el hígado y bazo de un roedor salvaje *(Ctenodactylus gondi)* un parásito intracelular, que, aunque inicialmente creyeron que se trataba de leishmanias, un año después lo denominarón *Toxoplasma gondii,* en razón de su forma arqueada (del griego toxon = arco). En años venideros es aislado de otros animales y por ello se le da el nombre de *Toxoplasma* seguido del propio del animal donde había sido hallado *(T. cuniculi, T. canis, T. avium,* etc.).

Etapa clínica

Las primeras descripciones de casos de toxoplasmosis humana fueron realizadas por Castellani (1913) y Janku (1923). Este último observó la presencia de toxoplasmas en la retina de una niña que había muerto con un cuadro de coriorretinitis que iba acompañada de microftalmía.

Etapa diagnóstica

Sabin y Feldman, en 1948, ponen en marcha la primera técnica serológica de diagnóstico, basada en la inhibición de la coloración que experimentan los toxoplasmas cuando se ponen en contacto con anticuerpos específicos. Goldman emplea por primera vez la técnica de inmunofluorescencia en 1957.

Etapa epidemiológica

La aportación inicial más importante es la de Hutchinson (1965), quien comprueba la existencia, en las heces del gato, de formas de resistencia hasta entonces desconocidas. Este hecho pone de manifiesto la importancia del gato en el ciclo y la transmisión de la enfermedad.

MORFOLOGIA

T. gondii presenta distintas formas, en razón del huésped donde se encuentra durante su ciclo vital. En el huésped intermediario, constituido por mamíferos, aves y hombre, se presenta bajo las formas de taquizoito o de bradizoito, y este último es el elemento que se halla en el interior de los quistes. El taquizoito puede encontrarse libre y sobre todo intracelular.

En los huéspedes intermediarios, que son los félidos (principalmente el gato), se localizan a nivel intestinal con

una morfología que oscila desde las formas esquizogónicas, merozoitos, gametocitos y gametos hasta el ooquiste no esporulado. En el medio externo se encuentran los ooquistes con esporoquistes y los ooquistes que contienen esporozoitos (ooquistes esporulados).

Taquizoito

El taquizoito, llamado también trofozoito, endozoito o forma proliferativa, tiene morfología oval o arqueada y corresponde a las formas de reproducción rápida dentro de las células. Su tamaño es de 3 × 7 µm. Suele encontrarse localizado intracelularmente y puede parasitar cualquier tipo de célula, pero sobre todo las del SRE, cerebro, retina y músculo cardiaco y estriado. Las únicas células no parasitadas son los hematíes. También puede presentarse como forma libre, que a través de la linfa y sangre, a veces parasitando los leucocitos migratorios y se distribuye por todo el organismo. Permanece viable por tiempo indeterminado en saliva, leche, orina y líquido peritoneal.

Teñido por tinción de Giemsa se presenta en formaciones ovales o ligeramente arqueadas, con el citoplasma azulado y el núcleo (localizado en situación central o un poco desplazado hacia el polo posterior) de coloración rosada.

Al microscopio electrónico (fig. 77-1) se observa en el polo anterior la existencia de una formación cónica hueca (conoide), cuya base está dirigida hacia el interior del parásito. Por delante del conoide se encuentra el anillo polar; ambas formaciones pueden ser prominentes. Del conoide parten 20-22 fibrillas subpeliculares (túbulos radiales) y los toxonemas o roptrias. Los toxonemas son formaciones alargadas, con aspecto de maza que se dirigen hacia el centro sin llegar a sobrepasar el núcleo. Probablemente secretan hialuronidasa y lisozima, que pasan al conoide y favorece la penetración celular. Los túbulos radiales, al ser contráctiles, podrían ser responsables del movimiento y locomoción del parásito. El citoplasma aparece limitado por una membrana unitaria de doble hoja. El núcleo se presenta dotado de una doble membrana y de nucléolo.

Los taquizoitos son las formas que se encuentran en la fase aguda de la enfermedad y se reproducen con extraordinaria rapidez (del griego tachos = rápido). Pueden atravesar la placenta y son, por tanto, responsables de la toxoplasmosis congénita. Si salen al exterior (orina, etc.) son poco resistentes y mueren rápidamente por desecación, congelación y en presencia de ácido clorhídrico, por lo que no son infectantes para el hombre, al menos por vía digestiva.

El taquizoito penetra en las células, previo contacto de su polo anterior con la membrana celular. La penetración se realiza gracias a los movimientos del parásito y probablemente por la acción de la hialuronidasa y la lisozima (factor de penetración) secretadas por los toxonemas y que pasan al conoide. Cuando el contacto entre el taquizoito y la célula no se realiza mediante el polo anterior, la penetración tiene lugar por un proceso similar a la fagocitosis. Una vez que ha penetrado en el interior de la célula, queda englobado en una vacuola celular, en la cual se multiplica rápidamente de forma asexuada. Este proceso, que se conoce como «endodiogénesis», se inicia con una hendidura en el polo anterior, que se propaga hacia atrás y conduce a la formación de dos nuevos elementos.

Los taquizoitos continúan dividiéndose durante 1-2 semanas distendiendo la vacuola, hasta que se produce el estallido de la célula. Este hecho sucede normalmente cuando la vacuola contiene 16-32 elementos, que algunos autores denominan «pseudoquiste». Al producirse el estallido celular, los taquizoitos quedan en libertad para proceder a parasitar células vecinas. Algunos de ellos, en escaso número, a través de la linfa y sangre se distribuyen por todo el organismo y pueden llegar a la placenta y aparecer en orina, leche, saliva, líquido peritoneal, etc.

Si la cepa es poco virulenta o el huésped desarrolla rápidamente una respuesta inmunitaria, los elementos que se encuentran en el interior de la vacuola celular se reproducen muy lentamente y se forma el quiste. Las formaciones que se encuentran en el interior del quiste reciben el nombre de bradizoitos.

Quiste

Los quistes son formaciones redondeadas, aunque a veces, por la presión ejercida por los tejidos vecinos, adoptan

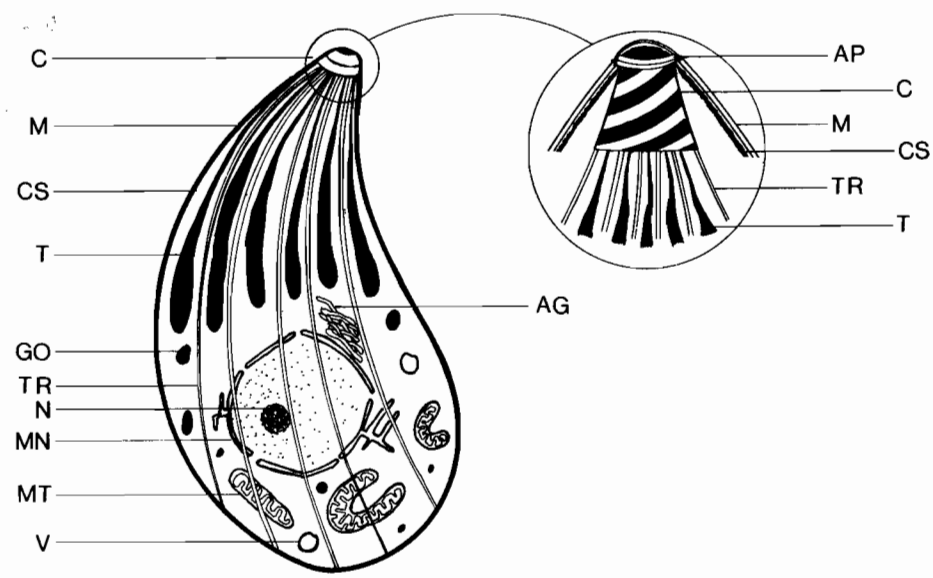


Fig. 77-1. *T. gondii.* C, Conoide; M, membrana; CS, capa subfibrillar; T, toxonemas; GO, granulación osmiófila; TR, túbulo radial; N, nucléolo; MN, membrana nuclear; MT, mitocondria; V, vacuola; AG, aparato de Golgi; AP, anillo polar.

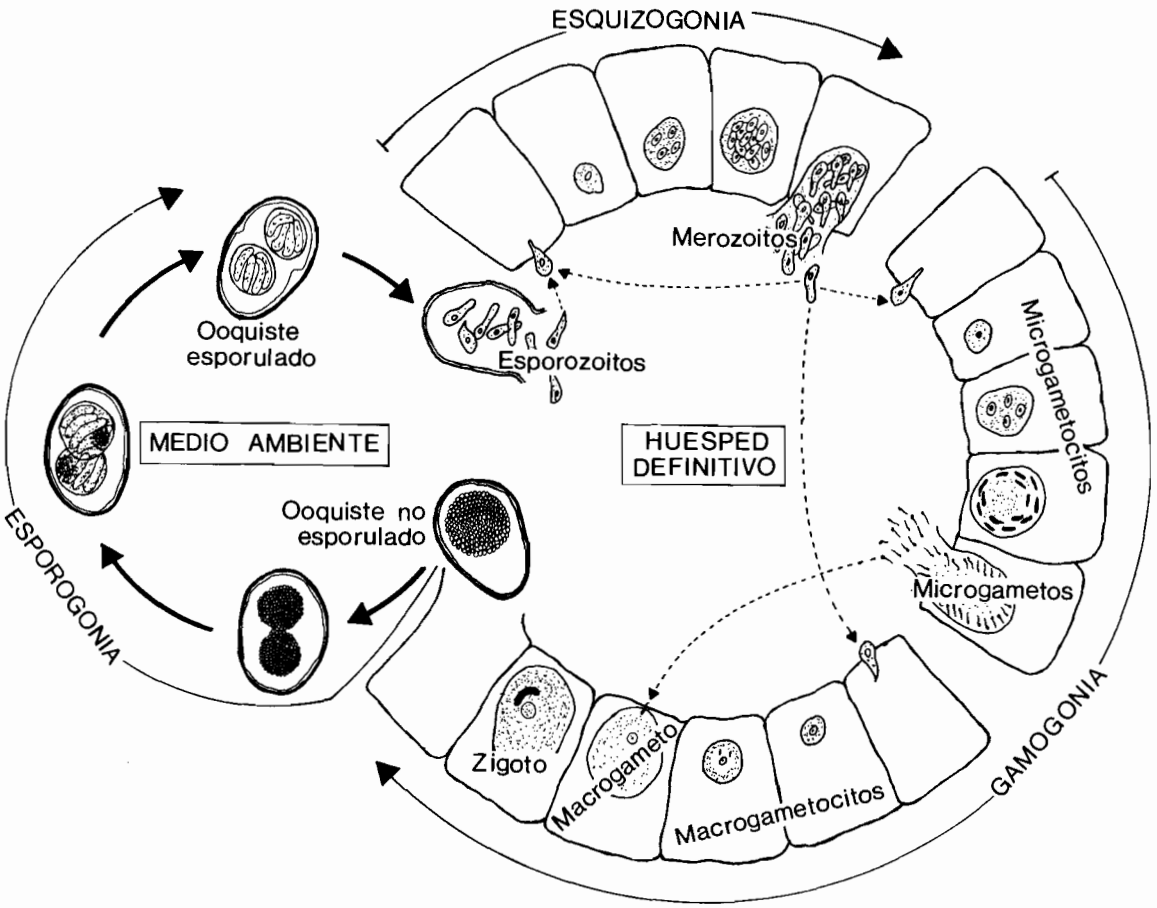


Fig. 77-2. Ciclo de *T. gondii* en el huésped definitivo y en el medio ambiente.

formas poligonales. De tamaño variable, entre 10 y 200 μm se localizan fundamentalmente en SNC, músculo esquelético y cardiaco, y menos a menudo en pulmón, bazo y ganglios linfáticos. Contienen hasta 3.000 bradizoitos y están rodeados de una membrana, elaborada por los propios toxoplasmas, que les protege de las defensas del organismo.

Bradizoito

Los bradizoitos (del griego bradi = lento) son, por tanto, formas de reproducción lenta que se encuentran en el interior del quiste. Morfológicamente son similares a los taquizoitos y se reproducen igualmente por «endodiogénesis». Los bradizoitos reciben también el nombre de cistozoitos, quistozoitos y zoitocistos.

El proceso de formación de los quistes es el siguiente: Las formas de multiplicación lenta (bradizoitos) secretan una serie de sustancias que se depositan en la membrana de la vacuola y posteriormente precipitan. A medida que los bradizoitos se multiplican, la vacuola aumenta de tamaño hasta que se produce la fusión de las granulaciones de la membrana vacuolar, momento en el que ésta se hace más resistente y pasa a llamarse membrana o pared del quiste. Este hecho se produce a los 8-10 días de infección.

El quiste, que es una formación que se encuentra en los huéspedes intermediarios (incluido el hombre) y en las células no epiteliales del intestino de los huéspedes definitivos, se transmite normalmente por vía digestiva. Las enzimas digestivas rompen la pared del quiste y dejan en libertad los bradizoitos, que, además, son más resistentes al jugo gástrico que los taquizoitos. Los quistes dejan de ser infectantes por el calor a 60 °C, la desecación y la congelación a −20 °C, seguida de descongelación.

Ooquistes

Los ooquistes son elementos ovoides, de 10-12 μm de diámetro; su pared es gruesa y resistente, y sólo se han encontrado en el gato y otros félidos salvajes.

Estos animales ingieren quistes (con bradizoitos), taquizoitos libres o localizados en el interior de las vacuolas celulares procedentes de huéspedes intermediarios, así como ooquistes esporulados (con esporozoitos) que se encontraban en el medio ambiente, procedentes de ooquistes no esporulados eliminados por las heces de un huésped definitivo (félidos). Normalmente, los taquizoitos son destruidos, no así los bradizoitos y esporozoitos, los cuales una vez libres (fig. 77-2) invaden las células epiteliales del intestino y se reproducen de forma asexuada *(esquizogonia)*, con lo que se producen en cada célula varios centenares de merozoitos. La célula al estallar libera los merozoitos, algunos de los cuales pasan de nuevo a otras células del epitelio y evolucionan en 3-5 días hacia formas sexuadas de micro y macrogametocitos y posteriormente micro y macrogametos. El

microgameto (gameto masculino), debido a la movilidad que le proporcionan sus flagelos, abandona la célula y penetra en otra en la que exista un macrogamento. Se produce la fecundación *(gamogonia)* y el zigote resultante sale a la luz intestinal recubierto de una membrana translúcida. Esta formación recibe el nombre de ooquiste no esporulado, no es infecciosa y se elimina con las heces del animal.

En el medio externo, cada ooquiste sufre otro proceso de reproducción asexuada *(esporogonia)* y se forman en el interior de cada ooquiste dos esporoquistes, cada uno de los cuales madura en cuatro esporozoitos, que son similares a taquizoitos y bradizoitos.

Este ooquiste con esporozoitos en su interior recibe el nombre de ooquiste esporulado.

La esporulación no se produce a temperaturas inferiores a 4 °C ni superiores a 37 °C. A 24 °C tarda en realizarse 2-3 días, a 15 °C, 5-8 días y a 11 °C, 14-21 días.

Los ooquistes son las formas más resistentes de esta parasitosis. Pierden la infecciosidad por ebullición, calor seco, formol, amoniaco y tintura de yodo. Se transmiten fundamentalmente por vía digestiva y constituyen la forma más importante de transmisión fecal-oral.

CICLO BIOLOGICO

T. gondii tiene dos tipos de huéspedes: intermediarios y definitivos.

Huéspedes intermediarios

Están constituidos por múltiples mamíferos (entre ellos el hombre) y las aves. La multiplicación se realiza de forma asexuada, por endodiogénesis. Los huéspedes y en particular el hombre se infectan normalmente por vía digestiva al ingerir quistes que tienen bradizoitos u ooquistes esporulados que tienen esporozoitos. Los bradizoitos y esporozoitos quedan libres en el intestino, pasan a la sangre y se distribuyen por todo el organismo humano. Todas las células pueden ser parasitadas, pero especialmente las del SRE, cerebro y músculo. En estas células, *T. gondii* se multiplica como taquizoito o como bradizoito y da lugar en este último caso a la formación de quistes. Ya se ha señalado que algunos taquizoitos (taquizoitos libres) por vía sanguínea pueden atravesar la placenta y condicionar una toxoplasmosis congénita.

El hombre no suele ser infectado por taquizoitos, ya que éstos resisten poco en el medio externo y son destruidos por el jugo gástrico. Otras posibles vías de contagio, distintas de la digestiva, serán analizadas posteriormente.

Huéspedes definitivos

Son el gato y otros félidos. En ellos, el toxoplasma se reproduce por esquizogonia (asexuada) y gamogonia (sexuada). Se infectan por ingestión de algún quiste (bradizoitos), ooquistes (esporozoitos) y más rara vez taquizoitos. Los toxoplasmas después de sufrir el ciclo intestinal aparecen en las heces como ooquistes no esporulados (no infecciosos).

En la figura 77-3, que recoge el ciclo del *T. gondii* en la naturaleza, puede apreciarse la existencia de dos ciclos: uno largo a través de huéspedes intermediarios y otro corto mediante ooquistes sin intervención de aquéllos.

PATOGENIA

T. gondii llega al organismo humano en forma de taquizoito o vehiculado por un quiste como bradizoito o por un ooquiste con esporozoitos.

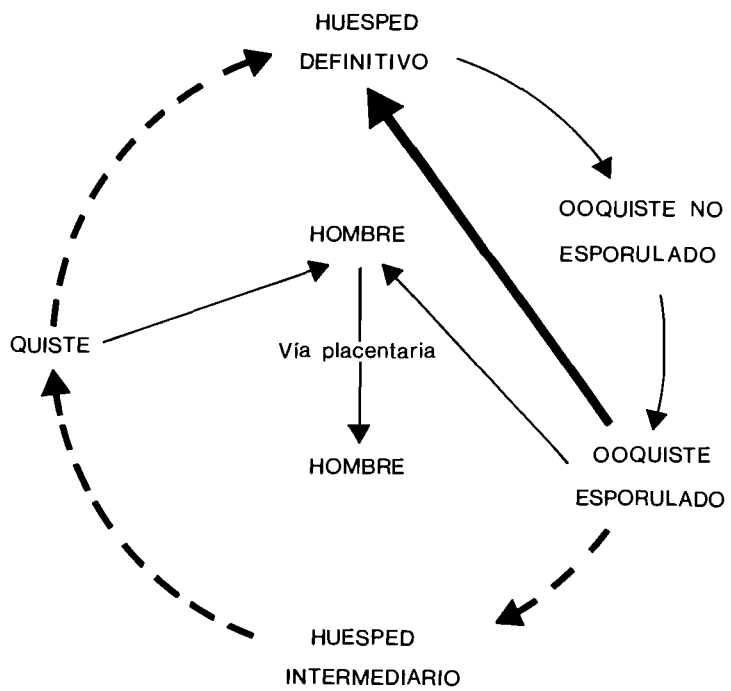


Fig. 77-3. Ciclo de *T. gondii* en la naturaleza.

Es excepcional la puerta de entrada respiratoria, cutánea o mucosa, pero, cuando así ocurre, las formas clínicas son atípicas y de extraordinaria gravedad.

Lo habitual es el contagio por vía digestiva con bradizoitos, pero no con taquizoitos, que serían destruidos por el jugo gástrico. Desde el tubo digestivo, los toxoplasmas se diseminan por vía sanguínea por el organismo y parasitan las células parenquimatosas de cualquier órgano, especialmente las del SRE.

Penetran en las células de forma activa gracias a sus movimientos y a la producción de lisozima e hialuronidasa. En algunas ocasiones lo hacen por un proceso similar a la fagocitosis. En estas células se multiplican por «endodiogénesis» y provocan lesiones tisulares como consecuencia de la destrucción celular y la reacción inflamatoria subsiguiente. El tejido destruido es sustituido por fibrosis o gliosis en el caso del sistema nervioso.

La multiplicación se lleva a cabo incluso en las células del SRE (macrófagos), donde el taquizoito resiste a la fagocitosis al impedir la unión fago-lisosoma.

Si se trata de cepas muy virulentas, en tanto que aparece una respuesta inmunitaria adecuada, la multiplicación intracelular es intensa con formación de «pseudoquistes», que al romperse liberan taquizoitos que parasitan células próximas y por linfa y sangre (a veces en el interior de los leucocitos) llegan a órganos muy distantes, incluida la placenta, en la que originan áreas necróticas. La transmisión placentaria se realiza directamente a través de los vasos, previa inflamación del corion, o provocando una placentitis con multiplicación en las células sincitiales. Posteriormente pasan a la sangre fetal por un mecanismo de pinocitosis. También se admite el paso a través del líquido amniótico, por deglución fetal.

Si la cepa es poco virulenta o se ponen en marcha los mecanismos defensivos del huésped, lo que acontece a las 2-3 semanas de la infección, se forman los quistes. En este momento, que coincide con la actuación del sistema inmunitario, se produce una desaparición de los taquizoitos circulantes y el proceso entra en una fase crónica.

Ocasionalmente, los quistes pueden romperse y dejar en libertad los bradizoitos. Si son muchos los que se rompen, se produce una reactivación de la enfermedad (localizada o generalizada).

INMUNIDAD

La inmunidad humoral se muestra eficaz sólo sobre los taquizoitos circulantes o libres y durante los dos primeros meses de la enfermedad. No obstante, el efecto protector es escaso, pues, aunque *in vitro* los anticuerpos favorecen la ingestión y digestión por los macrófagos, *in vivo* no parecen proteger frente a la reinfección, como lo prueban los ensayos realizados con suero inmune y la vacunación con toxoplasmas muertos. Los anticuerpos son IgG, IgM e IgA.

La inmunidad celular es más importante por constituir el principal mecanismo de resistencia. Es una inmunidad del tipo de la «premunición». Se debe a la activación de los macrófagos.

La existencia de inmunidad celular puede demostrarse mediante pruebas cutáneas, reacciones de inhibición de la migración de los macrófagos y transformación blástica de los linfocitos.

FORMAS CLINICAS

Existen dos formas clínicas: congénita y adquirida.

Toxoplasmosis congénita

Su causa es una toxoplasmosis materna, generalmente asintomática, sufrida durante el embarazo. No siempre que la madre padece una toxoplasmosis, se afecta el feto. La infección fetal se produce en un tercio de las infecciones maternas. El riesgo es mayor cuanto más agudo es el cuadro y sobre todo si aparece en el tercer trimestre del embarazo.

La infección precoz produce normalmente el aborto y la tardía origina partos prematuros o nacimientos a término de niños con infección, si bien ésta puede no manifestarse en el momento del nacimiento.

En relación con la edad fetal en que tuvo lugar el contagio, existen las siguientes posibilidades de expresión clínica al nacer:

1. Si la infección fetal fue precoz y no se produce el aborto, el recién nacido presenta secuelas importantes que constituyen la tríada de Sabin: hidrocefalia, calcificaciones intracraneales y coriorretinitis. No obstante, existen formas monosintomáticas, de las cuales la más frecuente es la retinocoroiditis bilateral. A veces aparecen convulsiones, hepatomegalia e ictericia, linfadenopatías, rash, anormalidades en el LCR y fiebre.
2. Si el feto se infectó más tardíamente, el niño nace con signos de encefalitis o encefalomielitis actual. Suele existir hidrocefalia (macro o microcefalia), retinocoroiditis bilateral, retardo psicomotor y convulsiones.
3. En las infecciones tardías que se producen en el último trimestre del embarazo, el niño al nacer presenta signos de infección generalizada con miocarditis, neumonitis, hepatoesplenomegalia e ictericia.

Sin embargo, lo más frecuente es que el niño al nacer no refleje signos o síntomas de toxoplasmosis. En unos casos, la infección permanecerá asintomática toda la vida. En otros, meses o años más tarde aparecen retinocoroiditis bilateral, a veces necrotizante, estrabismo, ataques epilépticos, retraso psicomotor e incluso ceguera. Menos frecuentes son las panuveítis y papilitis con atrofia del nervio óptico. Las manifestaciones, que normalmente se producen en adolescentes y jóvenes, son debidas, por tanto, a la reactivación de una toxoplasmosis congénita, asintomática hasta entonces.

Toxoplasmosis adquirida

En estos casos, la infección asintomática o un cuadro febril con astenia son lo más habitual. La toxoplasmosis enfermedad es, por tanto, la excepción. No suele observarse en personas jóvenes, y muchos de los casos que se describen corresponden en realidad a infecciones congénitas.

El período de incubación no se conoce con exactitud. En infecciones contraídas en laboratorios parece ser de 1-3 semanas.

Aunque puede presentar múltiples formas clínicas, lo normal es que lo haga como una linfadenitis local o genera-

lizada, acompañada o no de fiebre, mialgias, cefalea, rash cutáneo maculopapular, hepatoesplenomegalia y a veces linfocitosis. La linfadenopatía, que constituye en ocasiones la única manifestación, suele ser de localización cervical anterior o suboccipital. Siguen en frecuencia las localizaciones axilares, inguinales y mesentéricas.

El ganglio o ganglios afectados no están muy hipertrofiados, en ocasiones son dolorosos y no se adhieren a planos profundos ni supuran. El proceso generalmente es benigno, aunque a veces se producen reactivaciones. Existen otras formas clínicas, de peor pronóstico, que están en relación con el órgano implicado: miocarditis, neumonitis, encefalitis, hepatitis, afecciones cutáneas (eritema maculopapular), polimiositis, etc. Las formas oculares son poco frecuentes en la toxoplasmosis adquirida. Cuando se presentan, lo hacen como retinocoroiditis unilateral, a diferencia de las formas congénitas.

La toxoplasmosis adquirida es extraordinariamente grave en las personas inmunodeprimidas. En estos casos, casi siempre se trata de reactivaciones de infecciones latentes, y aunque su expresión clínica es muy amplia, predominan la meningoencefalitis necrotizante, la miocarditis y la neumonitis.

DIAGNOSTICO

Directo

Es poco empleado al proporcionar resultados bastante pobres. La mayor parte de las veces se utilizan técnicas y procedimientos laboriosos y lentos.

Muestras

Son válidas: exudados, líquidos corporales (cefalorraquídeo, peritoneal, amniótico), sangre y tejidos (pulmonar, muscular, cerebral, ocular, nódulos linfáticos) obtenidos por biopsia, o procedentes de autopsia en caso de fallecimiento.

Lo ideal es procesar la muestra rápidamente, aunque la sangre y tejidos pueden mantenerse, si es necesario, una noche a 4 °C. Nunca serán congelados o tratados con formol. Las reacciones de contrainmunoelectroforesis y ELISA pueden emplearse para la búsqueda de antígeno en suero, líquido amniótico y LCR.

Examen microscópico

Los cortes histológicos o el sedimento de los líquidos orgánicos se tiñen con el método de Giemsa o la técnica de Wright para ser observados al microscopio y detectar la presencia de taquizoitos o quistes tisulares. Para la tinción de los quistes puede emplearse también el reactivo de Schiff.

Los resultados del estudio casi nunca son concluyentes, ya que incluso en las formas graves existen pocos parásitos. Además, en los cortes histológicos con frecuencia se altera la morfología del toxoplasma, disminuye de tamaño y puede confundirse con artefactos u otros parásitos (*Leishmania, Trypanosoma, Histoplasma, Candida albicans*).

Puede recurrirse al microscopio electrónico y, mejor aún, a técnicas de inmunofluorescencia, directa o indirecta, que son las que proporcionan mejores resultados.

Aislamiento

Es el procedimiento más fiable, pero es lento y oneroso y no está al alcance de todos los laboratorios.

Aunque puede recurrirse a la inoculación en embrión de pollo o cultivos celulares, lo mejor es la inoculación en el animal de experimentación. Se emplean el ratón o ratas blancas, que, inoculados por vía subcutánea, intracerebral o mejor intraperitoneal, padecen una toxoplasmosis generalizada y se detecta el parásito en líquido peritoneal a las 2 semanas; 4 ó 6 semanas más tarde pueden observarse quistes en cerebro y anticuerpos específicos circulantes.

Las positividades, que se obtienen a partir de líquidos orgánicos o sangre inoculados, suelen ser exponentes de las fases agudas de la enfermedad, en tanto que las obtenidas por inoculación de tejidos reflejan una infección aguda o bien una infección latente (existencia de quistes tisulares).

Indirecto

Es el más empleado, dados la laboriosidad y errores que proporciona el diagnóstico directo. No obstante, las pruebas serológicas presentan algunos inconvenientes, tales como su insuficiente estandarización, dificultades de interpretación y el escaso resultado que proporcionan en infecciones latentes.

Lo ideal es emplear simultáneamente dos pruebas y es necesario, además, realizar dos determinaciones serológicas, en distintos tiempos de la evolución clínica, pues la cinética de los anticuerpos es extraordinariamente útil.

Las pruebas más empleadas son la reacción de Sabin y Feldman, conocida también como «*dye test*» (DT), inmunofluorescencia indirecta (IFI), hemaglutinación indirecta (HI) y fijación del complemento (FC). Ultimamente viene utilizándose la reacción de microaglutinación (MA), por su comodidad y sencillez.

Otras técnicas de más reciente aparición, pero de las que se dispone de menos datos, son la difusión en gel para estudio de anticuerpos en suero o en humor acuoso, que es útil para el diagnóstico de toxoplasmosis ocular y en inmunodeprimidos; contrainmunoelectroforesis; radioinmunoensayo; fluoroinmunoensayo; ELISA, que tiene una sensibilidad similar a la inmunofluorescencia y permite estudiar por separado IgG e IgM, y las pruebas de inmunoadherencia, muy sensibles para casos de uveítis, de positividad única y precoz en las fases activas de la infección.

Reacción de Sabin y Feldman («dye test»)

El *dye test* (DT) es una prueba sensible y específica, aunque compleja y peligrosa por utilizar toxoplasmas vivos. Por estas razones no está al alcance de todos los laboratorios. Produce escasas falsas negatividades y no da falsos positivos, salvo en personas que han recibido anticuerpos por transfusión.

Se basa en la pérdida de la afinidad que tienen los toxoplasmas por el azul de metileno, como resultado de la lisis parcial de la membrana del parásito por anticuerpos específicos más un «factor accesorio» del suero no caracterizado. Dado que el suero problema puede contener algún componente inespecífico, termolábil, que destruya la membrana parasitaria, ha de calentarse aquél a 60 °C durante 30 minutos antes de realizar la prueba.

En definitiva, si a un exudado peritoneal, rico en toxoplasmas, se le añade suero sanguíneo normal y azul de metileno, los toxoplasmas se colorean en azul; si el suero contiene anticuerpos específicos, aquéllos pierden su afinidad por el colorante. El título de la reacción viene dado por la máxima dilución del suero que deja sin teñir el 50 % o más de los toxoplasmas.

Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Tiene la misma sensibilidad y especificidad que el *dye test*, pero es más simple, económica y no precisa el empleo de toxoplasmas vivos. Detecta los mismos anticuerpos que aquél y, por esto, ambos se comportan de forma similar.

Se han descrito algunos falsos positivos por existencia de anticuerpos antinucleares. También pueden presentarse reacciones cruzadas con *Sarcocystis* y *Besnoitia*.

Una variante son las pruebas IFI-IgM, como el test de Remington, que utilizan un conjugado anti-IgM. Por detectar IgM, son extraordinariamente útiles para el diagnóstico de infección adquirida reciente e infección congénita. El factor reumatoide puede dar falsos positivos en este tipo de estudios.

Hemaglutinación indirecta (HAI)

Es específica, emplea toxoplasmas muertos y, además, es muy económica. Algunos autores sugieren que se trata de una reacción menos sensible que las anteriores, fundamentalmente en las fases agudas. Suele ser negativa en las infecciones congénitas. Por estas dos causas, nunca debe emplearse sola.

Fijación del complemento (FC)

Es menos sensible que las reacciones de Sabin y Feldman e inmunofluorescencia, a no ser que se utilice un buen antígeno. Se negativiza antes que las otras.

Reacción de microaglutinación (MA)

De introducción más reciente, es simple y cómoda, por lo que es muy utilizada. Nunca debe emplearse sola, pero puede ser válida como *screening*. Los anticuerpos que detecta (IgG e IgM) parecen ser similares a las de las pruebas de inmunofluorescencia y *dye test*. Si se efectúa con 2-mercapto-etanol, tiene las mismas posibilidades que las pruebas IFI-IgM.

Resultados e interpretación

Los anticuerpos que se detectan por DT e IFI (fig. 77-4 y tabla 77-1) aparecen entre la 1.ª y 3.ª semanas, se elevan rápidamente y alcanzan el máximo a las 4-6 semanas (títulos superiores a 1:1.000). Comienzan a descender a los 6-12 meses, pero pueden quedar títulos de 1:8 a 1:64 durante varios años o incluso toda la vida. Las pruebas IFI-IgM se positivizan antes (1 semana) y alcanzan su máxima cota a las 4-6 semanas (títulos 1:80). Lógicamente, los anticuerpos que detectan (IgM) comienzan a descender antes (4-5 meses) y se negativizan al cabo de 1 año o incluso más precozmente. A veces, títulos bajos (1:16) persisten algunos meses.

La reacción de HAI se positiviza a las 2-4 semanas. Su título aumenta rápidamente y a las 8-10 semanas se encuentran las cifras más elevadas (superiores a 1:1.000). A partir de este momento, los anticuerpos que detecta tienen una evolución muy parecida a los de DT e IFI. Es una reacción que, como ya se ha señalado, puede ser negativa en la toxoplasmosis congénita.

Los anticuerpos detectados por FC son los de aparición más tardía (3-4 semanas), con títulos máximos de 1:32 ó

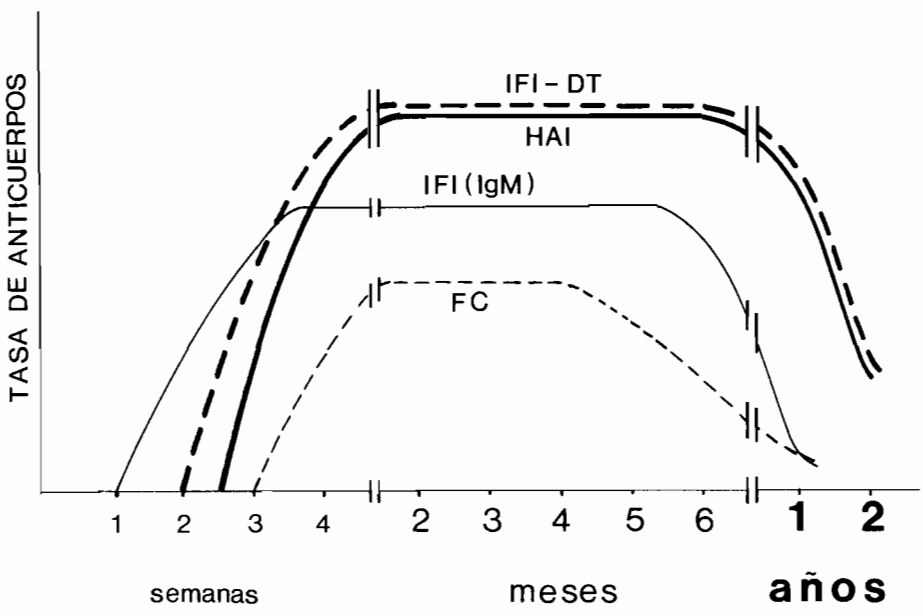


Fig. 77-4. Serología de la toxoplasmosis.

Tabla 77-1. Reacciones serológicas en la toxoplasmosis

Prueba	Comienzo de la positividad	Infección aguda. Título máximo y duración	Infección latente (crónica). Título medio y duración
Sabin y Feldman *(dye test)* (DT)	1-3 semanas	1:1.000 4-6 semanas	1:8 a 1:64 Descenso a los 6-12 meses, pero persistencia durante años*
Inmunofluorescencia indirecta (IFI)	1-3 semanas	1:1.000 4-6 semanas	1:8 a 1:64 Igual que en DT
Hemaglutinación indirecta (HAI)	2-4 semanas	1:1.000 8-10 semanas	1:16 a 1:128 Igual que en DT
Fijación del complemento (FC)	3-4 semanas	1:32 10-12 semanas	1:4 12-24 meses
Inmunofluorescencia indirecta-IgM (IFI-IgM)	1-2 semanas	1:80 4-6 semanas	Negativa a 1:20 Meses a 1 año

*Títulos superiores a 1:4.000 pueden persistir varios años.

1:64 a las 10-12 semanas. Descienden precozmente (3-4 meses) y se negativizan en un período comprendido entre 1 y 2 años.

La interpretación es a veces dificultosa. El resultado de una prueba aislada no tiene valor, a no ser que los títulos sean elevados. Sí son válidas las seroconversiones o la comprobación de un aumento significativo en el título, en una segunda prueba. Como existen problemas de interpretación, se tiende a expresar los resultados en unidades internacionales (UI) en relación con sueros patrón, pero, salvo en el caso de las IFI, no existe una estandarización. En la toxoplasmosis adquirida, los títulos de 1:64 en las pruebas DT, IFI y HAI suelen aceptarse como exponentes de infección y los de 1:256, como índices de infección reciente. En el caso de la FC son significativos los títulos de 1:8. Títulos de 1:80 en la prueba IFI-IgM indican infección reciente. Si la IFI se refleja en UI, tienen valor los títulos superiores a 300 UI, mientras que los comprendidos entre 100 y 300 UI son dudosos.

Para el diagnóstico de toxoplasmosis congénita hay que estudiar las tasas de IgM, pues éstas no atraviesan la placenta, a no ser que existan dehiscencias placentarias (en este caso, las IgM desaparecen en pocas semanas). Las pruebas que hay que emplear son IFI-IgM, MA con 2-mercaptoetanol y ELISA-IgM. Cualquier valor de IgM específica en el momento del parto indica infección congénita. La ausencia de IgM no excluye una toxoplasmosis congénita, pues puede tratarse de infecciones intrauterinas muy precoces o de niños con déficit inmunitario.

Estudio de la inmunidad celular

La inmunidad celular puede valorarse *in vitro* por el test de inhibición de los macrófagos o de transformación blástica de los linfocitos, e *in vivo* por la reacción intradérmica a la toxoplasmina (reacción de Fraenkel).

La intradermorreacción es una prueba de hipersensibilidad retardada, que utiliza como antígeno líquido ascítico de ratón. No se emplea como prueba diagnóstica, sino con fines epidemiológicos para conocer el grado de difusión de la enfermedad y la susceptibilidad a la toxoplasmosis de la mujer embarazada. Detecta el estado de «premunición» y la positividad se mantiene varios años, e incluso toda la vida.

TRATAMIENTO

Sólo deben tratarse las infecciones agudas. Tampoco necesitan tratamiento las formas de linfadenopatía en personas sin inmunodeficiencias, que cursan sin fiebre y otros síntomas reveladores de la afectación de otros órganos (cerebro, miocardio, etc.).

Existen varios fármacos que han probado ser eficaces, aunque de alguno de ellos se tiene poca experiencia en casos humanos. Los más importantes son la pirimetamina, sulfamidas, cotrimoxazol y espiramicina. Su actividad queda limitada a los taquizoitos. No atraviesan la membrana del quiste y, por tanto, no actúan sobre los bradizoitos. No obstante, algunos han señalado que la espiramicina puede penetrar en el interior de quistes. El tratamiento de elección es la asociación de pirimetamina y sulfamidas.

La pirimetamina se absorbe por vía oral, penetra bien en el LCR y bloquea el paso de ácido fólico o folínico. Es depresor de la medula ósea y puede ocasionar trombocitopenia y a veces anemia y leucopenia, por lo que en el transcurso del tratamiento deben realizarse controles de sangre periférica dos veces por semana. Para evitar su efecto tóxico, puede asociarse ácido fólico por vía oral o intramuscular. La pirimetamina no debe emplearse en el primer semestre de la gestación.

Las sulfamidas impiden la síntesis de ácido fólico. Las más activas son la sulfadiazina y la sulfamida triple (sulfadiazina, sulfamerazina y sulfametazina). Se comportan de forma sinérgica con la pirimetamina.

El cotrimoxazol (trimetoprim + sulfametoxazol) ha probado ser eficaz en animales e *in vitro*, pero resulta poco eficaz en toxoplasmosis humanas. En todo caso, su actividad es inferior a la de la asociación de pirimetamina y sulfadiazina o pirimetamina y triple sulfamida.

La espiramicina es menos tóxica, aunque menos activa, que la pirimetamina. Puede emplearse asociada a ésta o a las sulfamidas y es el fármaco de elección para el tratamiento de la toxoplasmosis en el embarazo.

Se han descrito algunos casos de retinocoroiditis con buena respuesta a clindamicina. El levamisol, que estimula linfocitos T y macrófagos, es otra posibilidad terapéutica que hay que evaluar en el futuro.

Los corticoides no están recomendados, pues pueden favorecer la diseminación de taquizoitos o reactivar focos la-

tentes. Sin embargo, en los casos de retinocoroiditis, en los que los fenómenos de hipersensibilidad son importantes en el desarrollo de las lesiones, está justificado su empleo.

La duración del tratamiento es difícil de precisar. Normalmente son suficientes 4 semanas, excepto cuando se trata de personas inmunodeprimidas, en las cuales el tratamiento deberá prolongarse 2-3 semanas más.

EPIDEMIOLOGIA

La toxoplasmosis es una antropozoonosis de distribución mundial. Afecta a múltiples especies animales, incluido el hombre.

Reservorio

El reservorio humano, salvo raras ocasiones, carece de importancia. No sucede lo mismo con los animales, pues más de 300 especies de mamíferos y unas 30 de aves padecen la enfermedad.

Entre los mamíferos salvajes, el reservorio comprende fundamentalmente los roedores (ratas, ratones, conejos, etc.). Ocasionalmente también pueden comportarse como tales el mono, zorro, ciervos, etc. Pero sin duda los más importantes, sobre todo por los hábitos dietéticos humanos, son los animales de abasto (óvidos, bóvidos, suidos, cápridos). Hay también que considerar a aquellos animales domésticos que están en contacto con el hombre, especialmente el perro y sobre todo el gato.

Las aves de mayor riesgo son las domésticas o peridomésticas (gallina, pollo, paloma, pato). También se han comprobado parasitaciones de aves silvestres, pero su significación epidemiológica es escasa.

Mecanismo de transmisión

La infección humana normalmente se produce por quistes u ooquistes. El taquizoito puede eliminarse por saliva, leche, orina, etc., pero es extraordinariamente lábil en el medio ambiente y muy sensible a desinfectantes y ácido clorhídrico. Existen varias posibles vías de entrada al organismo.

Vía digestiva

La ingestión de quistes u ooquistes, por ser resistentes al ácido clorhídrico, es sin duda el principal mecanismo.

La ingestión de carne cruda o semicocida, portadora de quistes, es extraordinariamente peligrosa. Las carnes cocidas, conservadas (salazón, ahumado, congelación) o refrigeradas no suelen ser infectantes.

El ooquiste llega por vía digestiva de forma directa (objetos recientemente contaminados) o indirecta, pues los ooquistes salen con las heces del gato, contaminan el suelo y, si encuentran condiciones apropiadas de humedad, temperatura de 25 °C y oxígeno suficiente, esporulan y mantienen su viabilidad. El agua o alimentos contaminados serían su vehículo inmediato. Además, hay que tener en cuenta que son bastante resistentes a los desinfectantes comunes.

Vía placentaria

Se produce por taquizoitos en un tercio o menos de las mujeres embarazadas que padecen una infección aguda.

Vía parenteral

Se han descrito casos humanos por transfusión de sangre o leucocitos. Las formas que se transmiten son los taquizoitos.

Son posibles, y así lo prueban experiencias de laboratorio, puertas de entrada respiratoria, mucosa (conjuntival) y cutánea. Esta última suele ser debida a manipulación de carnes parasitadas y menos a mordeduras de animales.

PROFILAXIS

Dada la extraordinaria difusión de la parasitación animal, la infección humana es de difícil prevención. Las medidas deben ir encaminadas a proteger principalmente a los inmunodeprimidos y a evitar la toxoplasmosis congénita.

Las medidas más importantes son la cocción adecuada de la carne y vísceras animales, así como la higiene individual (lavado de manos) para evitar la infección por ooquistes.

La prevención de la toxoplasmosis congénita es de extraordinaria importancia. En toda mujer en edad de gestar debería hacerse un estudio serológico y controles posteriores durante el embarazo, para detectar posibles seroconversiones. El tratamiento de la mujer embarazada con espiramicina es la única medida válida.

Sería aconsejable evitar transfusiones de sangre o leucocitos, si en el donante existen anticuerpos frente al toxoplasma.

Se han realizado ensayos de vacunación de animales con parásitos muertos (irradiados), atenuados y con extractos solubles de *T. gondii*. En algunos casos se han obtenido resultados alentadores, como ha sido la vacunación con toxoplasmas muertos por el calor que dio lugar a la aparición de anticuerpos. No obstante, no se ha probado de forma fehaciente su eficacia en el hombre.

Pneumocystis carinii

Pneumocystis carinii es un protozoo oportunista, patógeno para el hombre y animales. Afecta fundamentalmente a niños prematuros e hiponutridos, y adultos con inmunodeficiencias. La enfermedad, que casi siempre es una neumonitis intersticial de tipo plasmocelular, es grave y presenta una mortalidad, sin tratamiento, que oscila del 50 (formas epidémicas) al 90-95 % (formas esporádicas).

Existen datos que indican la existencia de brotes importantes de neumocistosis en niños hiponutridos durante la II Guerra Mundial. El primer caso humano fue descrito, en 1952, por los checoslovacos Vanek y Jirovec.

La situación taxonómica de *P. carinii* no está bien establecida, pero se acepta que se trata de un esporozoo de la clase *Haplosporea*. Las especies animales parecen ser antigénica-

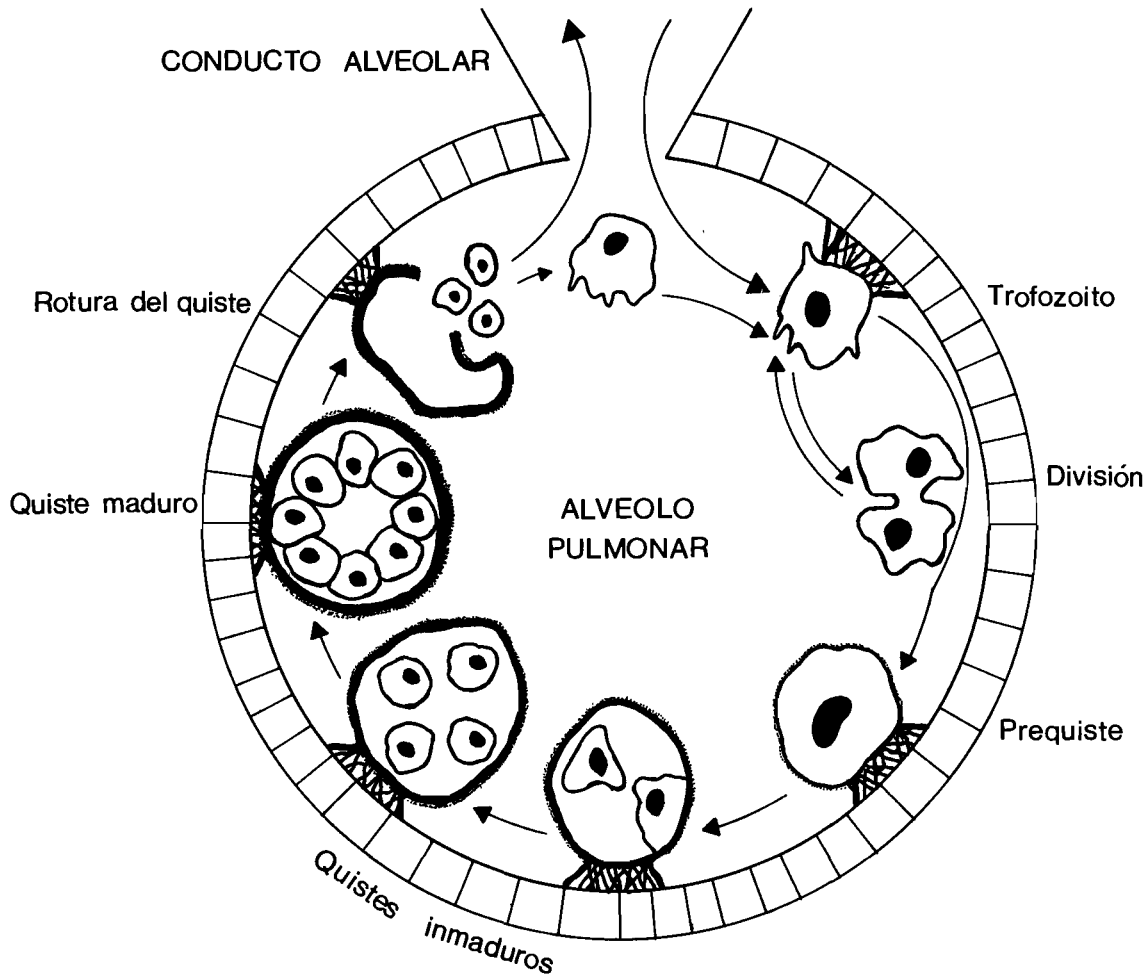


Fig. 77-5. Ciclo biológico de *P. carinii*.

mente distintas de las halladas en el hombre, por lo que algunos autores consideran que debería crearse el género *Pneumocystis* y diferenciar dentro de él varias especies.

MORFOLOGIA Y CICLO

P. carinii presenta dos formas parasitarias: trofozoito y esporozoito. Este último es el elemento que se encuentra en el interior del quiste (fig. 77-5).

El trofozoito, o elemento extraquístico, es la forma libre, tiene un tamaño de 1-5 μm y morfología redonda u oval. Posee una doble membrana, de 200-300 Å de espesor, un núcleo central, vacuolas, mitocondrias y retículo endoplásmico. Presenta unos delgados microtúbulos, que son prolongaciones similares a los pseudópodos y le confieren movilidad ameboide. Con estas formaciones se adhiere al epitelio alveolar y se pone en contacto con los macrófagos del pulmón. Se divide por fisión binaria y algunos de los nuevos elementos secretan una pared, y queda así constituido el prequiste (quiste inmaduro).

El quiste, o forma C, se origina por evolución de un prequiste. Tiene un tamaño de 5-10 μm y una pared gruesa de tres capas secretadas por el parásito. El quiste, al igual que el trofozoito, está unido a la superficie alveolar.

En el interior de los quistes (inmaduros o maduros), el trofozoito se divide por fisión binaria, hasta formar 4-8 nuevos elementos, que reciben el nombre de esporozoitos. Los esporozoitos están adheridos a la pared y tienen un tamaño de 1-2 μm y una estructura y composición interna similar a la del trofozoito.

Posteriormente, la pared del quiste se colapsa y se rompe, y quedan en libertad los esporozoitos, que inician un nuevo ciclo de multiplicación como trofozoitos en el mismo huésped o en otro nuevo, abandonan el alveolo por vía bronquial y son expulsados con la tos.

PATOGENIA

P. carinii es un parásito oportunista. Probablemente, el contagio se produce bastante antes de aparecer los síntomas, pero la enfermedad sólo se desarrolla cuando existe un terreno apropiado. Son factores predisponentes todos aquellos que condicionan una disminución de la inmunidad humoral, celular o ambas, tales como las inmunodeficiencias primarias o secundarias (leucemias, linfomas, Hodgkin), enfermedades autoinmunes, trasplantes de órganos y tratamientos con citostáticos e inmunosupresores. En los tratamientos con corticoides, el cuadro se manifiesta al

retirar éstos o disminuir la dosis, pues, aunque el parásito es activado durante la terapia, la reacción inflamatoria se produce después. La neumocistosis es frecuente en homosexuales y se asocia muchas veces a sarcoma de Kaposi. Es una de las infecciones oportunistas más frecuentes en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

La forma habitual de contagio es la vía respiratoria. El parásito llega a los alveolos y origina, fundamentalmente en la forma epidémica, una infiltración plasmocelular del septo alveolar con acumulación de un material de aspecto espumoso, que contiene mononucleares, histiocitos, células epiteliales, algunos neutrófilos, proteínas, fibrina, complemento, IgA, IgG e IgM. Este material distiende el alveolo y le confiere un aspecto de panal de abejas. A veces existe una membrana hialina que reviste la pared alveolar.

Posteriormente, el exudado alveolar se organiza y aparecen unas formaciones esféricas, semejantes a los cuerpos de Masson de la neumonitis reumatoide. Menos frecuente es la forma de un granuloma de células epitelioides y gigantes (neumocistosis granulomatosa). Por vía linfo-hematógena puede propagarse a distancia y originar focos extrapulmonares (neumocistosis extrapulmonar), y por vía bronquial, a otras áreas del pulmón.

Las secuelas más importantes se presentan en forma de enfisema, fibrosis y calcificaciones pulmonares.

MANIFESTACIONES CLINICAS

La neumocistosis pulmonar la mayor parte de las veces es latente o subclínica. Los cuadros clínicos pueden presentarse de forma epidémica o esporádica. Por tratarse de una neumonía intersticial, la característica más importante es la discordancia existente entre la gran sintomatología clínica y radiológica y la escasez de signos físicos de exploración.

El cuadro presenta dos etapas claramente diferenciadas. En la primera fase existe una gran sintomatología respiratoria (disnea, tos, retracción intercostal, aleteo nasal, cianosis, etc.) y ausencia de signos físicos y radiológicos. En la segunda fase continúan los síntomas respiratorios y aparecen ya datos radiológicos del tipo de infiltraciones bilaterales difusas perihiliares, con ramificaciones radiales a partir de hilio pulmonar. El infiltrado respeta los vértices y bases pulmonares. No suele haber afectación pleural ni adenopatías hiliares, pero no son infrecuentes los neumatoceles.

La neumocistosis epidémica es poco frecuente en la actualidad. Se presenta en niños hiponutridos, fundamentalmente en salas de prematuros, orfelinatos e internados entre los 2 y los 6 meses de edad. Tiene un período de incubación de 1-2 meses y comienzo insidioso, y no suele haber fiebre. A veces, los síntomas respiratorios van precedidos de diarrea. La neumocistosis esporádica es más frecuente. Afecta a niños mayores y adultos con inmunodeficiencias primarias o secundarias. El período de incubación, en las neumocistosis que siguen a tratamientos con corticoides, parece ser de 1-2 meses. Se inicia bruscamente y cursa con fiebre. Se han descrito localizaciones extrapulmonares (hígado, bazo, riñón, páncreas, etc.), pero su frecuencia es muy baja.

DIAGNOSTICO

P. carinii puede encontrarse en personas sanas. Su hallazgo en muestras pulmonares, frotis faríngeo o aspirado gástrico no indica necesariamente presencia de enfermedad. El diagnóstico diferencial debe establecerse con *Cryptococcus*, *Histoplasma capsulatum*, otras micosis y enfermedades parasitarias. Muchas veces se asocia a infecciones por citomegalovirus.

Directo

Son muestras útiles las obtenidas por biopsia pulmonar (abierta o percutánea), lavado bronquial y aspiración transtraqueal. El esputo tiene poco valor.

Al microscopio electrónico puede observarse la presencia de trofozoitos, prequistes y quistes en los espacios alveolares. Para teñir los trofozoitos y esporozoitos, debe emplearse la tinción de Giemsa, la de Wright o la de Gram-Weigert. Para demostrar los quistes, ha de utilizarse las tinciones GMS (Gomori metenamina, nitrato de plata [*Silver nitrate*]) o el azul de toluidina O. Con la tinción GMS, la pared del quiste se colorea de marrón oscuro y se observan en su interior dos estructuras que semejan comas opuestas. Con el azul de toluidina, la pared se tiñe de violeta púrpura. Cuando se trata de secciones de tejidos, debe emplearse la tinción GMS o la del azul de toluidina, mientras que, si es un exudado, los mejores resultados se obtienen con la tinción de Giemsa. La inmunofluorescencia directa puede ser útil cuando existen pocos quistes en la preparación.

P. carinii se multiplica en células pulmonares de embrión de pollo y células Vero, pero son métodos poco rentables para el diagnóstico. La contrainmunoelectroforesis es útil para la búsqueda del antígeno en el suero. La prueba es positiva en el 90-95 % de los casos clínicos y negativa en infecciones asintomáticas.

Indirecto

La búsqueda de anticuerpos no da resultados satisfactorios en las formas esporádicas (inmunodeprimidos), pero sí en las epidémicas. Debe tenerse presente que en algunas personas sanas existen anticuerpos a títulos bajos.

La mayor dificultad viene dada por la preparación del antígeno. Los anticuerpos aparecen a las 2-3 semanas de comenzar la enfermedad, y por inmunofluorescencia indirecta se consideran positivos títulos de 1:20. Esta prueba es sensible, pero de especificidad variable (30-80 %) y da reacciones cruzadas con citomegalovirus. Menos valor tiene la fijación del complemento.

TRATAMIENTO

El fármaco de elección para el tratamiento de la neumocistosis es el cotrimoxazol, durante 14 días por vía oral. La pentamidina es tan activa como el cotrimoxazol, pero, al ser más tóxica, no debe emplearse.

EPIDEMIOLOGIA

La neumocistosis es una afección cosmopolita. El reservorio es animal (roedores, bóvidos, équidos, perro) y humano (enfermos y sanos sin sintomatología).

La vía de transmisión parece ser la respiratoria, fundamentalmente de persona a persona, por medio de gotitas de Pflügge que contengan quistes o formas libres del parási-

to. La transmisión placentaria ha sido señalada en algunos casos y, aunque posible, parece excepcional.

La enfermedad se presenta de forma epidémica, en niños de 2-6 meses, hiponutridos, principalmente en comunidades cerradas, o esporádica, en niños mayores o adultos con deficiencias inmunológicas, enfermedades debilitantes y tratados con citostáticos, corticoides e inmunosupresores. Afecta más a varones, pues las inmunodeficiencias van ligadas fundamentalmente al cromosoma.

PROFILAXIS

Por tratarse de una enfermedad de la que se conocen pocos datos epidemiológicos, no existe una profilaxis claramente establecida. En personas de alto riesgo se ha empleado con éxito el cotrimoxazol durante 2 años. Las medidas irán encaminadas a mejorar la higiene personal y de la vivienda, evitar la convivencia de enfermos y personas con factores predisponentes, mejorar la alimentación, etc.

Isospora belli y Sarcocystis

Son protozoos intracelulares patógenos del tubo digestivo, poco frecuentes en climas templados.

I. belli es el agente de la isosporiasis humana, cuadro que parece observarse ahora con mayor frecuencia, principalmente en personas que pertenecen a alguno de los grupos de riesgo del SIDA. Su ciclo biológico no se conoce con exactitud, siendo el hombre el único huésped descrito.

La infección se produce por vía oral, al ingerir ooquistes con agua o alimentos. El proceso cursa con diarrea y dolores cólicos abdominales, y a veces esteatorrea y malabsorción con pérdida de peso y desnutrición progresiva.

La sarcocistosis es una zoonosis producida por *Sarcocystis* sp., la mayor parte de las veces por ingestión de carnes de cerdo o ganado vacuno, que son los principales huéspedes intermediarios. El hombre puede también ser huésped intermediario.

La enfermedad se produce por ingestión de quistes presentes en las masas musculares de los huéspedes intermediarios, produciéndose la liberación de los bradizoitos del quiste a nivel intestinal, los cuales penetran en las células del epitelio, y después de una reproducción sexuada aparecen los ooquistes, que casi siempre se rompen en el intestino, liberando los esporoquistes. Los huéspedes intermediarios se infectan por ingestión de ooquistes o esporoquistes.

La sarcocistosis se manifiesta con vómitos, dolores cólicos y diarrea a las 3-6 horas de la ingestión del alimento, y a veces fiebre. Al igual que en la isosporiasis existen pocos datos sobre las posibilidades terapéuticas.

Cryptosporidium

Es un protozoo intracelular obligado, responsable de un cuadro gastrointestinal de tipo diarreico, principalmente en inmunodeprimidos. Es un coccidio de 2 a 6 µm de tamaño, en razón de la fase del ciclo en que se encuentre. En el género se han descrito algunas especies, que habrán de ser confirmadas en el futuro.

Los ooquistes esporulados, que son el elemento infectante, salen al medio ambiente con las heces del hombre y algunos animales y penetran por vía digestiva. En el intestino (casi siempre el intestino delgado) se produce la rotura del ooquiste, liberándose los esporozoitos en la luz intestinal. Estos esporozoitos penetran en las células del epitelio y quedan albergados en una especie de vacuola, próxima al borde de los «microvilli». El ciclo intestinal es complejo; inicialmente hay una reproducción asexuada y posteriormente, otra sexuada. El zigoto resultante evoluciona casi siempre hasta dar un ooquiste de pared gruesa, que esporula en el intestino y sale con las heces. Un 20 % de los zigotos se transforman en ooquistes de pared fina, que liberan esporozoitos en la luz intestinal, reiniciándose el ciclo.

La criptosporidiosis es un cuadro gastrointestinal de intensidad variable y cuya evolución depende principalmente del estado del sistema inmunitario. En personas inmunocompetentes suele ser más frecuente en niños que en adultos y se manifiesta como un proceso diarreico, con náuseas, vómitos y dolores cólicos, benigno y autolimitante, casi siempre en pocos días. En inmunodeprimidos, la clínica es más acentuada, el proceso no es autolimitante, a veces existe participación del intestino grueso y la diarrea se prolonga durante varios meses con desnutrición progresiva, caquexia e incluso muerte. En inmunodeficientes se han descrito también cuadros respiratorios (neumonitis).

El diagnóstico es de tipo directo, siendo las heces el producto válido. Mediante técnicas de sedimentación con formol-éter o floculación en gradiente de sacarosa y posterior tinción con lugol pueden visualizarse microscópicamente los ooquistes. Dan también buenos resultados la tinción de Ziehl-Neelsen o alguna de sus modificaciones, pues el ooquiste es ácido-alcohol-resistente.

Las formas autolimitantes no necesitan tratamiento etiológico. En inmunodeprimidos, los mejores resultados se han obtenido con espiramicina, pues, aunque no consigue la erradicación del parásito, produce una mejoría de los síntomas.

Epidemiológicamente, la criptosporidiosis es una zoonosis (mamíferos ungulados, principalmente), aunque también existe la transmisión interhumana, que explica los brotes descritos en hospitales y guarderías. La forma infectante es el ooquiste de pared gruesa, muy resistente a la mayor parte de los desinfectantes y que sobrevive bien en el medio externo. La vía de llegada es la digestiva (agua y alimentos), aunque también se ha probado la penetración por vía respiratoria.

Es una enfermedad cosmopolita, que se presenta más en verano y meses lluviosos y que incide fundamentalmente en inmunodeprimidos y en niños.

BIBLIOGRAFIA

Anderson, S.: *Toxoplasma gondii.* En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2127-2137. Wiley, New York, 1979.

Apt. W., y Gottlieb, B.: Otras protozoosis de los tejidos. En Parasitología Clínica, 247-255. Inter Médica, Buenos Aires, 1979.

Araujo, F. G., y Remington, J. S.: Antigenemia recently acquired acute toxoplasmosis. J. Infect. Dis., 141, 144-150, 1980.

Atias, A., y Thiermann, E.: Toxoplasmosis. En Parasitología Clínica, 231-246. Inter Médica, Buenos Aires, 1979.

Barriga, O. O.: Immune reactions to parasitic protozoa. En The Immunology of Parasitic Infections, 41-138. University Park Press, Baltimore, 1981.

Brown, H. W., y Neva, F. A.: Intestinal and luminal protozoa. En Basic Clinical Parasitology, 5.ª ed., 23-54. Appleton-Century-Crofts. Norwalk, 1983.

Desowitz, R. S.: Ova and Parasites, 191-202. Harper and Row, Cambridge, 1980.

Hirt, H.: Toxoplasmosis. El Ateneo, Buenos Aires, 1974.

Hughes, W. T.: *Pneumocystis carinii* pneumonia. N. Engl. J. Med., 297, 1381-1383, 1977.

Hughes, W. T.: *Pneumocystis carinii.* En Mandell, G. L.; Douglas, R. G., Jr., y Bennett, J. E. (dirs.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 2137-2142. Wiley, New York, 1979.

Jacobs, L.: New knowlege of *Toxoplasma* and *Toxoplasmosis.* Adv. Parasitol., 11, 631-669, 1976.

Katz, M.; Despommier. D. D., y Gwadz, R. W.: *Pneumocystis carinii.* En Parasitic Diseases, Springer, New York, 183-186, 1982.

Knight, R.: Protozoan parasites. En Parasitic Disease in Man, 12-44. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1982.

Krick, J. A., y Remington, J. S.: Toxoplasmosis in the adult. An overview. N. Engl. J. Med., 298, 550-551, 1978.

Sun, T.: Toxoplasmosis. En Pathology and Clinical Features of Parasitic Diseases, 47-55. Masson, New York, 1982.

Sun, T.: Pneumocystosis. En Pathology and Clinical Features of Parasitic Diseases. Masson, 57-64. New York, 1982.

Stagno, S.: Congenital toxoplasmosis. Am. J. Dis. Child., 134, 635-637, 1980.

Welch, P. C.: Masur, H.; Jones, T. C., y Remington, J. S.: Serologic diagnosis of acute lymphadenopathic toxoplasmosis, J. Infect Dis., 142, 256-264, 1980.

Capítulo 78

Helmintos: Trematodos

Gonzalo Piédrola-Angulo

Concepto y clasificación de los helmintos

Los helmintos, gusanos o vermes son metazoos, animales pluricelulares, no vertebrados, de simetría bilateral, sin apéndices articulados y con una envoltura músculo-cutánea, que rodea la cavidad general o celoma.

Están provistos de órganos y tejidos derivados de tres hojas embrionarias: ectodermo, mesodermo y endodermo. Las estructuras anatómicas que poseen se hallan modificadas por la adaptación a la vida en el huésped o los huéspedes, que le son necesarios.

El tegumento, o cutícula, puede ser duro, elástico o delicado; por debajo de él se halla una capa muscular, responsable del movimiento. El aparato digestivo es un largo tubo con dos aberturas, una anterior o boca y otra posterior o ano. En la primera pueden existir acetábulos musculares, que permiten el mantenimiento o sujeción a ciertas zonas del huésped (cestodos y trematodos). Todos ellos carecen de aparato circulatorio y de órganos de la respiración; la mayor parte del ciclo vital transcurre en condiciones anaerobias.

El sistema nervioso está bien desarrollado e integrado por un par de ganglios supraesofágicos, de los que parten dos ramas nerviosas longitudinales.

Pero si la mayoría de los aparatos de los gusanos parásitos se han vuelto rudimentarios, los órganos sexuales, por el contrario, se encuentran muy desarrollados. En muchos de ellos, los sexos están separados, pero, en otros (cestodos y ciertos trematodos), el hermafroditismo es la norma. El resultado de la unión de las células de ambos sexos es el huevo, que se produce en grandes cantidades, hasta 200.000 o más por aparato genital femenino y día. Esto se debe a que un porcentaje pequeñísimo de los huevos o larvas serán capaces de infectar a un nuevo huésped y el parásito debe asegurar el ciclo. Además, en muchos helmintos, son necesarios uno o varios huéspedes, lo que disminuye las posibilidades de pase de unos a otros de los huéspedes intermediarios.

Todos los helmintos se encuentran condicionados por factores ecológicos, como el clima, terreno, humedad, existencia de huéspedes intermediarios y factores de los propios individuos, así como el estado previo de nutrición, existencia de otras enfermedades parasitarias o no, hábitos higiénicos, costumbres religiosas, etc., que es necesario conocer cuando se quieren plantear medidas profilácticas en estas parasitosis.

Los helmintos (del griego *helmins*, gusano), parásitos del hombre, que le producen enfermedades, se dividen en dos grandes *Phylum:*

1. *Nematoda* o gusanos cilíndricos, no segmentados y con sexos separados.
2. *Platyhelminthes*, gusanos planos, segmentados o no y hermafroditas, salvo *Schistosoma*. Se dividen en dos clases:

a) Cestodos: segmentados, con varios órganos de fijación y hermafroditas.

b) Trematodos: no segmentados, en forma de hoja, hermafroditas o con sexos separados.

Trematodos

CONCEPTO Y CLASIFICACION

Los trematodos o distomas son gusanos planos, no segmentados, en forma foliácea o alargada y con poro genital en la cara abdominal. La palabra *tremas* procede del griego, agujero o ventosa. A diferencia de los cestodos, los otros gusanos planos, tienen aparato digestivo, en los estadios juveniles poseen cilios y pueden tener sexos separados.

Las especies que ocasionan patología humana pertenecen a la familia *Digenea*, en que la reproducción sexuada de los adultos va seguida de multiplicación asexuada, en las fases larvarias, dentro de caracoles.

Morfología

Los distomas tienen forma de hoja, pero, según el estado de contracción, pueden ser ovoides o cilíndricos. Su tamaño varía de milímetros a centímetros, según las especies. Haremos una descripción somera de sus estructuras (fig. 78-1):

1. La *cutícula* envuelve al parásito y es lisa o cubierta de espinas, ganchos, escamas o canaladuras. A través de ella se absorben los hidrocarbonados y pueden secretarse metabolitos. Histológicamente posee dos capas: una externa sin núcleos y con vacuolas, y otra interna, celular. No hay microtriquias ni poros. Por debajo de la cutícula hay capas musculares: circular externa, oblicua media y longitudinal interna.

2. Las *ventosas* musculares sirven para adherirse al huésped y son dos: una bucal localizada en el extremo anterior y otra ventral, mayor y posterior o acetábulo.

3. El aparato *digestivo*, que comienza en la ventosa bucal, se continúa con la faringe, musculosa y succionadora, y un esófago corto. Este se continúa con el intestino bifurcado en dos ciegos, de longitud variable y extremos cerrados, que dan la forma de Y invertida a todo el aparato.

4. El sistema excretor es bilateral y simétrico, y se abre en el extremo posterior del gusano por el poro excretor. Está formado por células «en flama», diseminadas, capsulares, tubos colectores y vejiga, que vierten a dicho poro. Las células «en flama» o solenocitos son huecas, con un micropenacho de cilios que ondean hacia dentro y al extremo capsular. La misión de esos cilios es «abanicar» los desechos líquidos y quizá regular el metabolismo hídrico.

5. La *respiración* del parásito es anaerobia; sin embargo, las formas larvarias requieren oxígeno.

6. El sistema *nervioso* comprende dos ganglios laterales en la región de la faringe, unidos por comisuras dorsales. De cada ganglio parten troncos nerviosos (dos) hacia atrás y adelante en las caras dorsal, ventral y lateral. Además, existen ganglios especiales en la región genital, ventosas, y terminaciones nerviosas sensoriales, sensibles a la luz en la parte anterior del cuerpo.

7. Con respecto a los órganos *reproductores*, a excepción de *Schistosoma*, los distomas son hermafroditas, quizá con la finalidad de supervivir en caso de parasitación por un único verme. Los testículos, generalmente dos, aparecen en la mitad posterior del parásito y son de forma variable según las especies; de cada uno sale un vaso eferente y se reúne en un solo vaso deferente, que se ensancha en el saco del cirro para formar la sinuosa vesícula seminal. Se continúa con un conducto eyaculador, que termina en el órgano del cirro musculoso, que da al poro genital inmediatamente anterior a la ventosa ventral.

El ovario único, equidistante entre la ventosa ventral y el poro excretor, posee un corto oviducto, que recibe también un receptáculo seminal (almacén de espermatozoides) y el canal de Laurer, de misión desconocida. El oviducto da al ootipo, donde también acude el conducto vitelino común que aporta el producto de las glándulas vitelinas, muy ramificadas y dispuestas sistemáticamente en las caras laterales. Alrededor del ootipo hay otro grupo de glándulas (de Mehlis), en una zona más dilatada, llamada *ampula*. Se continúa con el útero, tubo tortuoso y largo, lleno de huevos y que da al vestíbulo genital común, que se abre al poro genital.

En la fecundación, los espermatozoides, a partir del cirro, atraviesan el útero y se acumulan en el receptáculo seminal. Los óvulos se fertilizan al bajar por el oviducto, y las glándulas vitelinas aportan las cubiertas; maduran en el útero y en algunas especies embrionan, mientras que en otras esto tiene lugar en el exterior. La forma y tamaño de los huevos son típicos y constantes, lo que permite el diagnóstico del parásito. La cubierta posee un opérculo polar, que se abre como una tapa y permite la salida de la larva (excepto en el género *Schistosoma*).

Ciclo vital

Los huevos a través de heces, orina o esputos salen del huésped. Los de *Schistosoma* eclosionan nada más salir, pero los de *Fasciola* requieren un período de embrionación en el agua. El huevo embrionado contiene la larva en primer estadio o *miracidio*. Este sale por apertura del opérculo en el agua o movimientos enérgicos de las larvas (*Schistosoma*). El miracidio es piriforme y ciliado, nada en el agua y es atraído por ciertas especies (características en cada caso)

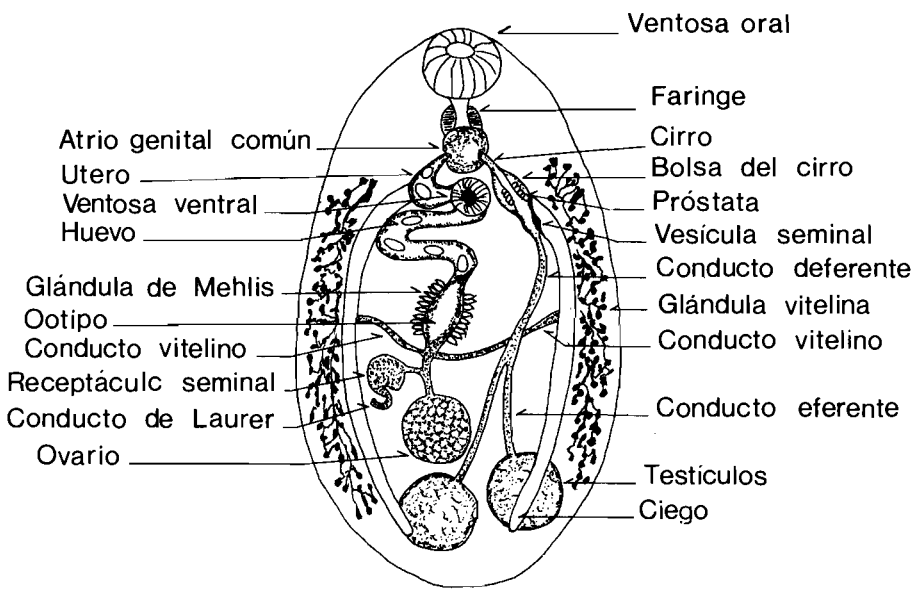


Fig. 78-1. Esquema de trematodo.

Tabla 78-1. Clasificación de los distomas más importantes que afectan al hombre

Distomas o duelas digestivo-pulmonares (fascioliasis)
Hepáticas
Fasciola hepatica
Clonorchis sinensis
Intestinales
Fasciola buski
Pulmonar
Paragonimus westermanii
Distomas de la sangre humana (esquistosomiasis o bilharziasis)
De venas vesicales
Schistosoma haematobium
De venas intestinales
Schistosoma mansoni
Schistosoma japonicum
S. intercalatum

de caracoles de agua dulce, gracias a estímulos quimiotácticos de los jugos del caracol. Entra por cualquier vía en él y pierde los cilios. El miracidio no puede vivir libre más de 24 horas.

En los tejidos linfáticos del caracol, el organismo adopta la forma de una bolsa alargada, sin boca, con una gran cavidad en el cuerpo dentro de la que proliferan los brotes germinales. La bolsa se llama esporocisto de *primera generación* y los embriones de su interior, esporocistos de *segunda generación* (en *Schistosoma*) o redias. Si el esporocisto madre está cerca de la puerta de entrada, las redias migran por los vasos linfáticos hacia la glándula digestiva (hepática) de la espiral del molusco gasterópodo. Las redias tienen ya aparato digestivo y excretor primitivo y en su interior se desarrollan otros brotes germinales que se desarrollan y transforman en larvas provistas de cola (en griego cola = kerkos), que se llaman cercarias. Como vemos, en estos estados larvarios existen varios poliembriones, es decir, de cada miracidio salen de 100.000 a 250.000 cercarias. La cercaria tiene un cuerpo elíptico (con ventosas orales y ventrales y todos los aparatos en forma rudimentaria) y una cola para nadar. Esta puede ser de tronco único y acanalado o bifurcarse en la porción distal (diferencias interesantes). Las cercarias, al madurar, abandonan el organismo madre y se convierten en seres de vida libre.

Esta vida es limitada, a menos que encuentre un segundo huésped (pez, crustáceo, caracol o vegetal). En éste, la fase es ya de metacercaria, forma sin cola y enquistada. Para invadir el huésped definitivo (hombre o animal), la metacercaria del segundo huésped debe ser ingerida, si bien en algunos casos las cercarias pueden penetrar por la piel del huésped definitivo. En éste, la metacercaria sale del quiste y es ya muy similar al gusano adulto. Esto sucede en el intestino delgado y de ahí emigra hacia los órganos en que se desarrolla hasta alcanzar la madurez. La clínica, inmunidad y anatomía patológica se estudiarán en cada caso.

Clasificación

Aunque son muchas las especies de distomas que pueden afectar al hombre, sólo citaremos las más importantes y las clasificaremos con criterio clínico y de localización en el hombre de las lesiones (tabla 78-1). En la tabla 78-2 se recogen las principales características diferenciales de los trematodos de interés humano.

FASCIOLA

Son gusanos planos, no segmentados, hermafroditas y de forma oval.

Fasciola hepática

Sinonimia: distoma hepaticum, pirihuin (Chile), *saguaipe* (Argentina).

Tabla 78-2. Cuadro resumen de los principales trematodos de interés humano

Parásito	Tamaño	Huevos	Caracol	Huésped secundario	Cuadro en el hombre	Otros animales	Observaciones
Fasciola hepatica	30 × 13 mm	150 × 75 µm, opérculo	*Lymnaea*	–	Distomatosis hepática	Ovejas, hervíboros	Ingestión de berros, verduras o agua
Clonorchis sinensis	20 × 4 mm	30 × 15 µm, opérculo	*Bulimus*	Ciprínidos o langostinos	Distomatosis hepática oriental	Perro, gato, cerdo, etc.	Ingestión de pescado crudo
Paragonimus westermani	12 × 5 mm	90 × 50 µm, opérculo	*Thiara Pomatiopsis*	Cangrejos o langostinos	Distomatosis pulmonar	Mamíferos domésticos y salvajes	Ingestión de cangrejos crudos
Fasciola buski	70 × 20 mm	130 × 80 µm, opérculo	Planórbidos	Plantas	Distomatosis intestinal	Cerdo, perro	Ingestión de plantas
Schistosoma haematobium	10 × 1 mm 20 × 0,2 mm	100 × 50 µm, espolón terminal	*Bulimus Biomphalaria*	–	Bilharziasis vesical	Monos	Entran por piel y mucosas Cancerígeno
Schistosoma mansoni	12 × 6 mm 17 × 7 mm	150 × 50 µm espolón lateral	*Biomphalaria Tropicorbis*	–	Bilharziasis intestinal	Monos	Entran por piel y mucosas Disentería
Schistosoma japonicum	15 × 0,5 mm 25 × 0,3 mm	70 × 50 µm, sin espolón	*Oncomelania*	–	Esquistosomiasis oriental Enfermedad de Katayama	Gran cantidad de mamíferos domésticos y salvajes	Disentería

Morfología y ciclo vital

Es un trematodo grande, de 2 a 3 cm de longitud por 1-1,5 cm de anchura. Es aplanado, de aspecto foliáceo y color café claro. Es muy característico un saliente anterior, el cono cefálico, en cuya extremidad se encuentra la ventosa oral, mientras que la ventral del mismo tamaño se halla en el sitio de unión del cono con el resto del parásito; entre ambas aparece el poro genital. El intestino, los testículos y las glándulas vitelinas están muy ramificados.

Los *huevos* son grandes (150 × 75 µm), elípticos, pardo-amarillentos, operculados y no segmentados en el momento de la puesta.

El parásito adulto se localiza en el hígado y vías biliares del ganado ovino, bovino y porcino y accidentalmente en el hombre, y los huevos se eliminan con las heces (fig. 78-2). Estos pasan al agua y a una temperatura favorable entre 10 y 30 °C (22-25 °C) se embrionan y dan lugar a *miracidios*, ovalados y ciliados, de 130 a 180 µm, que salen del huevo por el opérculo. El miracidio nada libremente y en un plazo inferior a 24 horas debe encontrar a su huésped, una de las 20 especies de caracoles del género *Lymnaea* (en Europa, *L. truncatula*). Al ingresar en el caracol, el miracidio pierde los cilios, donde se forma un *esporoquiste*, dos generaciones de *redias* y las *cercarias*, de cola fina y no bifurcada. Por cada miracidio que penetra en el caracol se forman 500 a 600 cercarias. Estas abandonan al caracol en enjambres, y por la noche, nadan hacia las plantas acuáticas, donde pierden la cola y se enquistan: son las *metacercarias*, de 500 µm de diámetro.

Las metacercarias contenidas en los pastos o en verduras, como los berros, son ingeridas por un huésped hervíboro, donde llegan al intestino, atraviesan su pared tras perder la envoltura y pasan a la cavidad peritoneal. A los 5-15 días llegan a la cápsula de Glisson, la perforan y atraviesan la glándula hasta las vías biliares, adonde llegan 2 meses después de la ingestión de la metacercaria (período de invasión). La llegada a las vías biliares marca el comienzo del período de estado.

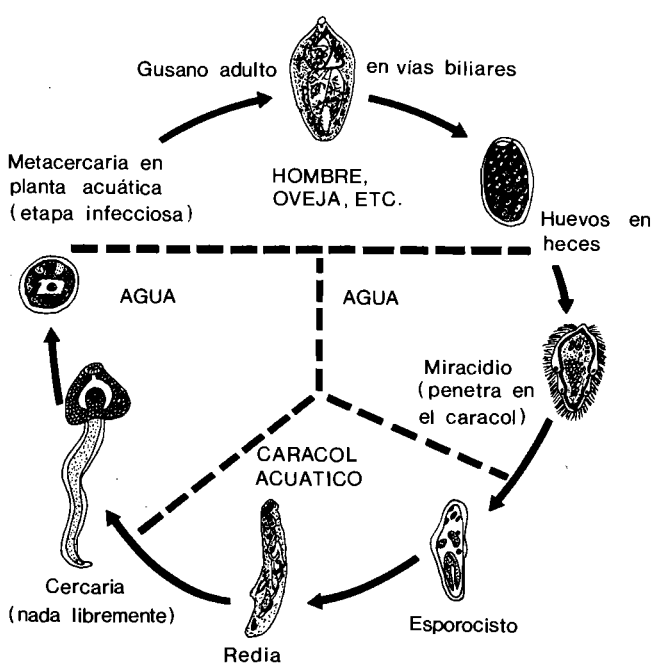


Fig. 78-2. Ciclo vital de *F. hepatica*.

Fisiopatogenia

El paso del parásito por el hígado da lugar, en primer lugar, a microabscesos necróticos, infiltrados de leucocitos y eosinófilos. Posteriormente, estas lesiones de 2 mm se convierten en nódulos amarillentos, caseosos, de 5 mm y con signos de inflamación crónica. En las vías biliares, el parásito actuaría por acción traumática, expoliadora y tóxica. Anormalmente puede pasar al cístico, vesícula, colédoco e incluso localizaciones extrahepáticas.

Clínica

En el hombre da lugar a la fasciolasis o distomatosis hepática (duela hepática de la oveja). El cuadro varía según el número de metacercarias ingeridas, desde la ausencia de síntomas a la enfermedad grave.

En el período de invasión puede aparecer dolor en el hipocondrio derecho, de carácter muy variable, hepatomegalia y fiebre no muy alta. En el período de estado aumenta el dolor, que puede hacerse cólico agudo, lo que plantea una posible intervención. Hay dispepsia, subictericia o ictericia, urticaria, fiebre en agujas y hepatomegalia. Como complicaciones se describen la colecistitis aguda, empiema vesicular, obstrucciones mecánicas del colédoco, litiasis biliar, trombosis venosas múltiples y la presencia de infiltrados pulmonares.

El «halzoun» del Próximo Oriente es una laringofaringitis causada por la fijación de *F. hepatica* en la faringe, tras la ingestión de hígado crudo.

Diagnóstico

Ante la sospecha de la enfermedad (trastornos digestivos, fiebre, urticaria, hepatomegalia y eosinofilia) se realizará un hemograma, ya que son típicas la leucocitosis, anemia y eosinofilia (40-60 %). La fosfatasa alcalina sérica está elevada, de forma característica. El diagnóstico fundamental se establece por la demostración de los huevos en la bilis o en las heces o en ambas (fig. 78-3); a veces puede ser un hallazgo casual en una intervención biliar.

Se pueden demostrar anticuerpos fluorescentes, hemaglutinantes, precipitantes y por ELISA y RIA, si bien hay reacciones cruzadas con otras helmintiasis. La fracción 2, demostrable por inmunoelectroforesis, es grupoespecífica y de gran interés diagnóstico. Las técnicas más utilizadas hoy día son la doble difusión, la contrainmunoelectroforesis, la hemaglutinación y las inmunoenzimáticas.

Tratamiento

El clorhidrato de emetina (1/mg/kg durante 15 días), el bithionol (diclorofenol) y el hexacloroparaxileno han sido muy usados. En la actualidad, el tratamiento de elección es el praziquantel, a dosis de 25 mg/kg, tres veces al día, un solo día.

Epidemiología y profilaxis

La fascioliasis es una zoonosis frecuente en las ovejas y ganado vacuno de los países del Mediterráneo y toda Hispanoamérica. La enfermedad tiene, por ello, una gran repercusión en la producción de carne, leche y lana.

El hombre se infecta al ingerir las metacercarias contenidas en aguas contaminadas o en los berros. Este antecedente se comprueba en el 90-95 % de los casos, por lo que debe ser pregunta obligada en la historia clínica. Muchos casos aparecen en forma de brote familiar.

La profilaxis se efectuará cultivando los berros en aguas libres de contaminación fecal animal, impidiendo la ingestión de berros crudos y sobre todo mediante la destrucción de los caracoles, huéspedes intermediarios indispensables del ciclo. El moluscocida más idóneo es el sulfato de cobre al 1/50.000. En zonas endémicas se recomienda filtrar el agua de bebida.

Clonorchis sinensis

Sinonimia: duela china, duela oriental del hígado.

Morfología y ciclo vital

Del griego *klon* (ramificado) y *orchis* (testículo), es un gusano plano, alargado, adelgazado por delante y redondeado por detrás, que mide 12-20 mm de longitud por 4 mm de anchura. La ventosa oral es mayor que la ventral y los testículos son grandes y muy lobulados, por detrás del ovario. Los huevos son amarillentos de 30 × 15 µm y su opérculo es muy visible, ya que su contorno no sigue el de la cubierta del resto del huevo.

Los huevos salen por las heces del huésped, que contienen *miracidios* que no maduran hasta llegar al agua y penetrar en caracoles de los géneros *Bulimus, Alocinma*, etc. En el intestino de estos moluscos sale el miracidio, que se transforma en esporocisto, redia y cercarias. Estas nadan libremente y mueren en el intervalo de 24-48 horas si no encuentran un pez de la familia *Cyprinidae*. Las cercarias poseen una cola, que pierden bajo las escamas del pez donde se enquistan como metacercarias de 120 µm. Este quiste tiene una doble pared; la externa se digiere por la tripsina del hombre que ha ingerido el pescado crudo, mientras que la interna es rota por la metacercaria en el duodeno y emigra al colédoco y canalículos biliares, donde en 30 días desarrolla el gusano adulto.

Clínica

El parásito afecta primero el epitelio biliar y luego el parénquima hepático, alterando su función. Esta afectación es muy variable según los individuos y el número de gusanos. La hepatomegalia e ictericia son los signos principales.

Diagnóstico

La comprobación de los típicos huevos en las heces o bilis, o en ambas, permite el diagnóstico definitivo (fig. 78-3).

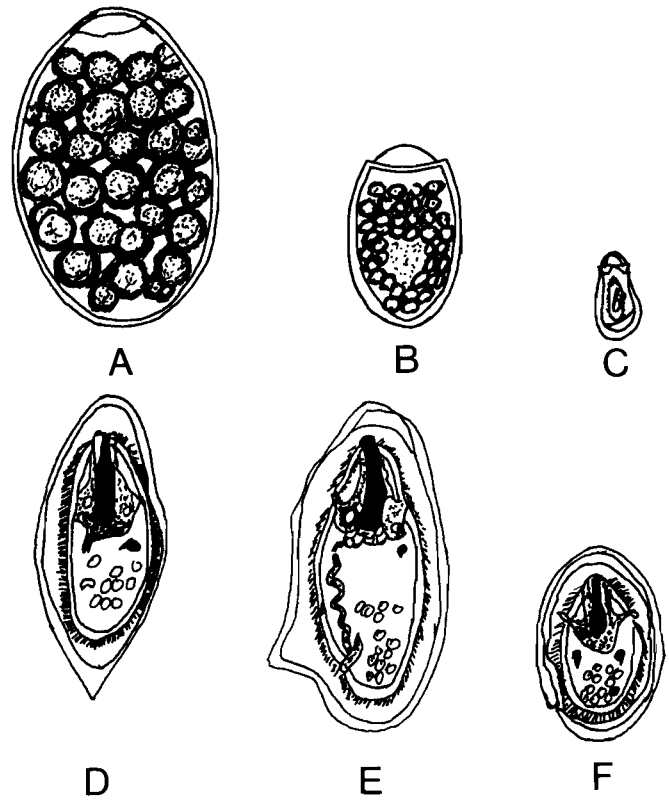


Fig. 78-3. Huevos de: A) *Fasciola hepatica* (150 × 75 µm). B) *Paragonimus westermani* (90 × 50 µm). C) *Clonorchis sinensis* (30 × 15 µm). D) *Schistosoma haematobium* (100 × 50 µm). E) *S. mansoni* (150 × 50 µm). F) *S. japonicum* (70 × 50 µm).

Tratamiento

El praziquantel, tres dosis de 25/mg kg cada 8 horas, en un día, constituye el tratamiento de elección.

Epidemiología y profilaxis

El grado de parasitación humana se encuentra en relación directa con el hábito de ingerir pescados crudos, criados en aguas dulces, donde se vierten heces humanas. Por esto es una parasitosis muy frecuente en la zona sur de China, aunque puede aparecer en otras regiones, a partir de emigrantes que provengan de lugares endémicos.

La profilaxis se realiza evitando la ingestión de pescado crudo, hirviendo éste, usando moluscocidas y esterilizando las heces de los enfermos con sulfato de amonio.

Otras duelas hepáticas

Opisthorchis felineus

Es una parasitosis de Europa Oriental. Su morfología, tamaño, huevos y ciclo vital son muy parecidos a los de *C. sinensis*. Los huéspedes intermediarios son también caracoles *(Bulimus)* y ciprínidos. Los gatos parecen ser los huéspedes más importantes en las áreas endémicas. *Opisthorchis vive-*

rrini es un parásito muy similar, que aparece en el Sudeste Asiático.

Fasciola gigantica

Posee una morfología y ciclo vital muy similares a los de *F. hepatica* y sólo se diferencian por su mayor tamaño tanto el adulto como los huevos (150-190 por 70-90 µm). Es parásito de muy variados hervíboros de Asia y Africa.

Dicrocelium dentriticum

Da lugar a una parasitosis de óvidos, bóvidos y otros hervíboros, en todas las regiones del mundo. Es excepcional en el hombre, pero se cita porque sus huevos pueden aparecer en las heces de personas que comen hígado crudo. Es operculado, pardo y de 40 × 30 µm. En el ciclo del parásito destaca la existencia de dos huéspedes intermediarios: caracoles de tierra y hormigas.

Fasciola buski

Sinonimia: duela intestinal.

Morfología y ciclo vital

Es un gusano oval, grueso y carnoso, el más grande de los trematodos: 70 × 20 mm. Está recubierto por espículas, y es característica la ventosa oral, mucho más pequeña que la ventral. Los testículos muy ramificados se hallan uno tras otro en la mitad posterior del parásito; las glándulas vitelinas están muy desarrolladas.

Los huevos son amarillentos, de 130 × 80 µm, y operculados. Salen por las heces en gran cantidad (25.000 por gusano y día) y maduran en el agua a 27-30 °C en 3-7 semanas, en las que pasan a miracidios ciliados, que invaden al huésped intermediario, caracol planorbido de diversos géneros. En el molusco evoluciona de esporoquiste a redias madres, redias hijas y cercarias, que, 4 a 6 semanas después del ingreso del miracidio, salen libres al agua, donde merced a su cola no bifurcada y musculosa buscan plantas adecuadas para enquistarse. Cualquier planta acuática es buena, y las principales son la castaña de agua, lirio acuático, bambú y loto. Aquí la larva se enquista, forma de metacercaria de unos 200 µm. Cuando las plantas crudas se pelan con los dientes, los quistes pasan al duodeno, donde se digiere la pared y la larva se une a la mucosa y da en 1 mes el verme adulto.

Este vive siempre en el duodeno y yeyuno, unido a la mucosa por la ventosa ventral, y se alimenta de los productos allí existentes.

Clínica

La lesión que produce el parásito en el sitio de fijación da lugar a dolor epigástrico pseudoulceroso, náuseas y diarreas. En casos graves hay edemas y ascitis.

Diagnóstico

Los síntomas clínicos de fasciolopsis en áreas endémicas son indicativos. Hay anemia, leucocitosis y eosinofilia, y el diagnóstico definitivo es la demostración del parásito en las heces o, más a menudo, la presencia de los huevos, muy parecidos a los de *F. hepatica*, de los que se diferencian por la distribución de los gránulos vitelinos.

Tratamiento

Hexilresorcinol (0,1 g/año de edad sin sobrepasar 10 g) o praziquantel.

Epidemiología y profilaxis

Este parásito es característico de diversas zonas de China, y los huéspedes definitivos principales son el hombre y el cerdo. La profilaxis se basa en evitar que las heces humanas y animales se pongan en contacto con las aguas, en la destrucción de las cercarias con cal viva o sulfato de cobre, y en el uso de moluscocidas.

Otras duelas intestinales

Heterophyes heterophyes

Es un parásito que se encuentra en Egipto y Asia Oriental, y cumple su ciclo en caracoles de agua salada y peces del género *Mugil*. *Metagonimus yokogawa* es una parasitosis del Lejano Oriente, que ha sido descrita también en países del área mediterránea. Su ciclo pasa por caracoles y peces de agua dulce del tipo de salmónidos y ciprínidos.

Otras parasitosis exóticas

Son las producidas por *Troglotrema salmincola*, *Gastrodiscoides hominis*, *Watsonius watsoni* y *Echinostoma ilocanum*.

Paragonimus westermani

Morfología y ciclo vital

El nombre del agente productor de la distomatosis pulmonar procede del griego *para* (al lado) y *gonimus* (gónadas). Es un gusano rojizo, de 12 × 5 mm, que tiene un típico aspecto de cuchara, con un extremo alargado y otro redondeado. Posee espinas y sus huevos, de 90 × 50 µm, son elipsoideos, pardoamarillentos, operculados y embrionados en el momento de la puesta.

A partir del huésped definitivo (hombre, mamíferos domésticos [perro, gato, etc.] y felinos salvajes), los huevos abandonan los quistes pulmonares por el esputo o deglutidos pasan a las heces. En el agua, tras 2-3 semanas a 27 °C para desarrollarse, dan lugar a miracidios, que nadan y penetran en caracoles de muy diversos géneros según los lu-

gares geográficos, donde pasan a esporocitos, redias de dos generaciones y cercarias, que salen del caracol varios meses después de su entrada. Las cercarias perecen rápidamente si no penetran en *cangrejos* o acociles de agua dulce, en cuya estructura se enquistan en gran cantidad en forma de metacercarias de 300 a 500 µm.

Al ingerir el cangrejo crudo, en salmuera o vino, las cercarias liberadas del quiste atraviesan la mucosa duodenal hasta el peritoneo, perforan éste y el diafragma, pasan a la pleura y llegan al pulmón entre 1 y 3 meses tras la ingestión.

Fisiopatología

El largo camino que recorre el *Paragonimus* explica que, junto a los quistes pulmonares (mucosanguíneos purulentos, con huevos), puedan aparecer gran número de localizaciones aberrantes en abdomen, piel, hígado, pared intestinal, ganglios y hasta encéfalo. Los quistes de hasta 2-3 cm están rodeados de una infiltración eosinófila y una reacción fibrosa; su apertura a un bronquio permitiría la expulsión de los huevos.

Clínica

Los síntomas, de aparición lenta, pueden ser primero abdominales y luego pulmonares, y predominan la tos y el esputo hemoptoico. El cuadro es de difícil diagnóstico diferencial con gran cantidad de procesos pulmonares.

Diagnóstico

Los síntomas pulmonares y signos radiográficos (opacidades redondeadas difusas) se aclaran con la eosinofilia sanguínea y la demostración en el esputo de los huevos (fig. 78-3). La reacción de fijación del complemento e intradermorreacción con antígenos de parásitos han demostrado muy buenos resultados.

Tratamiento

El bithionol, a dosis de 40-50 mg/kg de peso, a días alternos, ha demostrado excelentes resultados. El praziquantel se utiliza en tres dosis de 25 mg/kg cada 8 horas, durante 2 días.

Epidemiología y profilaxis

P. westermani es una parasitación típica de la costa asiática del Océano Pacífico. Pero en estos últimos decenios se han demostrado muchas más especies de distribución mundial, con un ciclo biológico similar; así, *P. kellicotti* (EE.UU). y *P. mexicanus, P. peruvianus* y *P. amazonicus* (Hispanoamérica). Destaca la importancia de *P. peruvianus* en Perú y Ecuador, y la enfermedad se adquiere por la costumbre de ingerir cangrejos de agua dulce crudos (selviche).

La profilaxis se basa en impedir la ingestión de moluscos; las metacercarias son muy sensibles al calor (55°, 5 min). Se filtrará el agua de bebida.

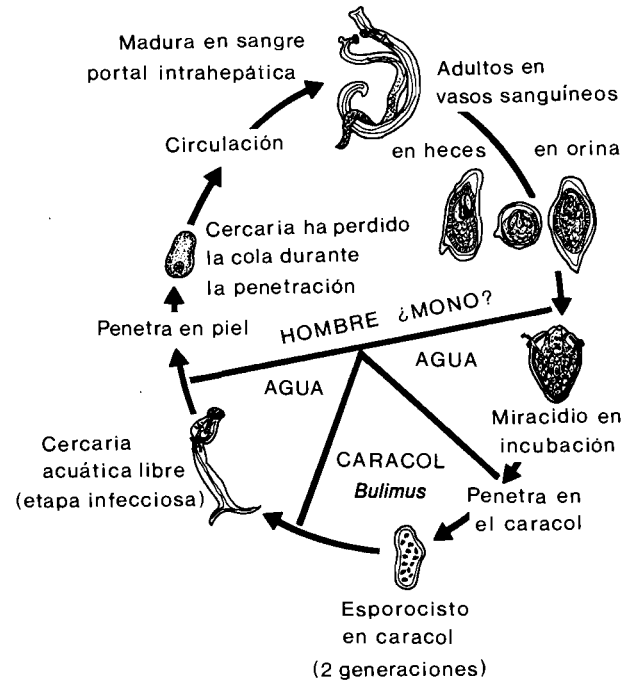


Fig. 78-4. Ciclo vital de *Schistosoma*.

SCHISTOSOMA

Schistosoma o *Bilharzia* son gusanos planos, no segmentados, de forma alargada y sexos separados (fig. 78-4).

Morfología

Son gusanos de 15-20 mm de longitud por 0,5 mm de anchura. El macho, más ancho, consta de dos partes bien diferenciadas: la anterior, cilíndrica, con las dos ventosas bien desarrolladas, y la posterior, casi cuatro quintas partes del total, plegada formando un canal ginecóforo, donde se deposita la hembra. La hembra es más oscura, larga (20-25 mm) y delgada. Los sistemas digestivo y excretor son similares a los de todos los trematodos, y el número de testículos del macho y la longitud y número de huevos en la hembra permiten diferenciar las especies.

Ciclo vital

El hombre es el huésped principal, donde los gusanos adultos viven. La hembra se halla en el canal ginecóforo del macho, en las venas intestinales o vesicales. Aquí la hembra expulsa diariamente de 300 a 3.000 huevos, en cuyo interior se desarrolla el *miracidio*, que por enzimas líticas (colagenasas) y presión rompe la pared del vaso, y pasa a los tejidos perivasculares y de ahí a la luz del intestino o vejiga y se expulsa por las heces u orina. La forma del huevo y la presencia de una espícula permiten el diagnóstico. En el agua (22-23 °C), los miracidios salen del huevo y nadan hasta encontrar un caracol, característico para cada especie, en el que se desarrollan transformándose en *esporocitos* de primera y segunda generación, que liberan miles de *cercarias*

que salen del caracol. Estas, de unas 450 µm, poseen dos espículas o espinas anteriores y una cola bifurcada y se ponen en contacto con la piel del hombre, a la que perforan por acción combinada de las espinas del extremo anterior y la secreción de fermentos citolíticos; a veces, son ingeridas y atraviesan el epitelio bucofaríngeo. En ambos casos, tras perder la cola, llegan a los capilares del tejido conectivo subepitelial y, con la circulación venosa, al corazón y pulmones, atraviesan los capilares, pasan a la circulación arterial y llegan a la porción intrahepática del sistema porta, donde se alimentan, crecen y parten hacia las venas mesentéricas, vesicales y pélvicas por emigración retrógrada.

Desde un punto de vista clínico, dividiremos las esquistosomiasis en vesicales (*S. haematobium*) e intestinales (*S. mansoni* y *S. japonicum*).

Esquistosomiasis vesical

Como *S. haematobium* vive en las venas pélvicas, sus huevos se depositan en los plexos vesicales y producen lesiones génito-urinarias. Las lesiones microscópicas son las típicas de infiltración celular con granulomas de células epitelioides, fibroblastos y células gigantes, rodeadas de células plasmáticas y eosinófilos. La inflamación crónica lleva a lesiones diseminadas en vejiga y genitales.

Clínica

La sintomatología, que puede tardar años en aparecer, comienza con una típica hematuria indolora terminal. La orina contiene moco, pus, hematíes y huevos. Posteriormente, la cistitis es más marcada, con disuria, polaquiuria, fiebre y malestar general. Aparecen úlceras y fístulas vésico-rectales, elefantiasis genital y, a veces, lesiones en pulmón, hígado, bazo, etc. Las lesiones cutáneas son características, primero las de puerta de entrada de las cercarias y, más adelante por una sensibilización alérgica, prurito y pápulas rojizas.

La irritación mecánica y química de los huevos, junto a la inflamación crónica, favorece la malignización de las células epiteliales de la vejiga y es, por tanto, una causa muy importante de tumores malignos en adultos jóvenes de las zonas endémicas.

Diagnóstico

Junto a una inespecífica leucocitosis eosinófila, la presencia de huevos de 100 × 50 µm con envoltura translúcida y espícula o espolón terminal permite el diagnóstico (fig. 78-3). La adición de agua estéril al sedimento de la orina permite descubrir los miracidios ciliados, lo que, junto a la utilidad diagnóstica, es un índice de huevos viables.

La cistoscopia y la pielografía son de gran interés para averiguar la amplitud de las lesiones. Las reacciones de fijación del complemento, precipitación circumoval (precipitación alrededor de los huevos de *Schistosoma*, cuando entran en contacto con anticuerpos séricos), la reación de Vogel (paralización de cercarias en presencia de suero inmune), la inmunoelectroforesis (fracción 4) y las intradermorreacciones corroboran el estudio.

Epidemiología

Originario del valle del Nilo, hoy se encuentra en toda Africa y en algunos países del Mediterráneo y Oriente Cercano. El caracol huésped pertenece a los géneros *Bulimus* y *Biomphalaria*. Se han encontrado diversos monos infestados.

Esquistosomiasis intestinales

Son dos las especies productoras de cuadros intestinales: *S. mansoni* y *S. japonicum*.

Fisiopatogenia

Durante la fase de invasión se produce el paso por las diferentes estructuras, hasta que, en la puesta de huevos, *S. mansoni* lo hace en la mesentérica inferior, mientras que *S. japonicum*, en la superior, con un número diez veces superior de huevos, por lo que las lesiones son más graves y difusas. Los huevos dan lugar a una infiltración de la pared intestinal, con úlceras, fibrosis, necrosis, trombosis de vénulas y papilomatosis. Suele haber fístulas, hipertensión portal y fibrosis hepática. La esplenomegalia puede ser marcada.

Clínica

Se distinguen cinco formas clínicas o períodos de la enfermedad:

1. Tipo 0 o toxémico: urticaria, fiebre, molestias pulmonares.
2. Tipo I o intestinal: diarrea mucosanguinolenta, dolores abdominales.
3. Tipo II o hepatointestinal: se une a lo anterior la hepatomegalia.
4. Tipo III o hepatoesplénico: aparecen la esplenomegalia y signos de cirrosis.
5. Tipo IV o final: cirrosis descompensada con ascitis, desnutrición y gran esplenomegalia.

La evolución de los síntomas es muy variable de unos casos a otros.

Diagnóstico

Se basa en la aparición, junto a la anemia, leucocitosis, eosinofilia y signos de insuficiencia hepática, de los huevos en las heces (fig. 78-3). Estos, de tamaño de 150 × 50 µm en *S. mansoni*, poseen un espolón lateral; los de *S. japonicum*, más pequeños (70 × 50 µm) y redondeados, tienen un espolón apenas visible. También pueden buscarse por biopsia rectal.

En el diagnóstico se usan reacciones de fijación del complemento de Fairley, inmunofluorescencia indirecta, precipitación, intradermorreacción, etc.; utilizan como antígeno cercarias o hepatopáncreas de caracoles infestados. Las reacciones cruzadas con otros helmintos son frecuentes. En la inmunoelectroforesis, la fracción 8 sería específica de *S. mansoni*, mientras que la 4 es genérica.

Epidemiología

S. mansoni es originario del Africa tropical, de donde pasó por los esclavos a América, y ocupa actualmente grandes extensiones de este continente desde las Antillas hasta Brasil. El huésped intermediario es un caracol de agua dulce del género *Biomphalaria*, en Africa, y *Tropicorbis*, en América. Se han encontrado roedores y monos infestados naturalmente.

S. japonicum produce la enfermedad de Katayama en el Lejano Oriente: China, Japón, Tailandia, Filipinas, etc. El huésped intermediario es *Oncomelania*, y se encuentran gran número de especies domésticas y salvajes como reservorios.

Tratamiento

Los fármacos de elección son la oxamniquina, que produce curaciones por encima del 95 % de los casos, 15-20 mg diarios, y el praziquantel, 40 mg/kg en dosis única.

Profilaxis

Se basa en el diagnóstico y tratamiento de los enfermos, la eliminación higiénica de las excretas y el uso de moluscocidas, como la niclosamida, Bayer 73 y caracoles que ingieren huevos de los moluscos (*Marisa cornuaretis*).

Otras afecciones por Schistosoma

Se han descrito en diversas partes del mundo cuadros clínicos en la piel de personas que se bañan o se ponen en contacto con aguas parasitadas por esquistosomas; la clínica es la de una dermatitis con prurito intenso y máculopápulas rojizas.

BIBLIOGRAFIA

Aparicio Garrido, J.: Técnicas de laboratorio en Parasitología Clínica. Marban, Madrid, 1966.

Atias, A.: Fascioliasis. En Atias, A., y Neghme, A. (dirs.): Parasitología Clínica. Intermédica, Buenos Aires, 1979.

Faiguenbaum, J.; Feres, A.; Denckaster, R., y Atias, A.: Fascioliasis hepática humana. Bol. Chile Parasit., 17, 7-12, 1962.

Faust, E. C.; Russel, P. F., y Jung, R. C.: Parasitología Clínica, Salvat Editores, Barcelona, 1974.

Foz, A.: Esquistosomiasis en España. Med. Clín., 82, 158-161, 1984.

García Rodríguez, J. A.; Martín, A. M., y García Luis, E. J.: Diagnóstico serológico de distomatosis por *Fasciola hepatica*. Estudio de 7 casos. Med. Clín., 85, 179-182, 1985.

Noya, M.; Lema, M.; Castillo, J.; Rodríguez, L., y Alí Al-Shaban, W. M.: Parasitación por *Fasciola hepatica*. Claves diagnósticas. Rev. Clín. Esp., 166, 177-179, 1982.

Pumarola, A.: Esquistosomiasis. En Piédrola Gil, G., y cols. (dirs.): Medicina preventiva y social, 6.ª ed. Amaro, Madrid, 1980.

Smithers, S. R., y Terry, R. J.: The immunology of Schistosomiasis. En Dawes, B. (dirs.): Advances in Parasitology, vol. 14. Academic Press, London, 1976.

Capítulo 79

Cestodos

Gonzalo Piédrola-Angulo

CONCEPTO Y CLASIFICACION

Definición

Los cestodos o tenias son platelmintos hermafroditas con el cuerpo segmentado y desprovistos de tubo digestivo, ya que se alimentan directamente por ósmosis de los nutrientes existentes en el intestino del huésped. El cuerpo de las tenias adultas está aplanado dorsoventralmente y, a menudo, es de color blanco. Son característicos su cabeza dotada de ventosas y, a veces, un rostelo *(T. solium)* armado con ganchos.

Morfología

En ellos podemos distinguir (fig. 79-1):

1. *Escólex*, cuadrangular, provisto de cuatro ventosas o dos hendiduras (botridios), y, en muchas especies, de unos ganchos quitinosos, fijos a una parte saliente llamada rostelo, pico o rostrum.
2. *Cuello*, delgado y no segmentado, poco diferenciado y desprovisto de aparato genital.
3. *Estróbilo*, formado por una serie de segmentos, anillos o proglótides (de 3 a 4.000), tanto más grandes y maduros cuanto más disten del escólex. De ahí que puedan ser inmaduros, maduros o grávidos. Dan el aspecto blanquecino acintado a estos parásitos. En los proglótides se encuentran los órganos genitales masculinos (testículos, canalículos, conducto deferente y bolsa del cirro) y femeninos (ovarios, oviductos, útero con sus huevos y vagina); ambos se ponen en contacto en el seno genital, donde se encuentra el poro genital. Este puede estar del mismo lado en cada proglótide *(Hymenolepis)*, alternar irregularmente *(Taenia)* o ser bilateral *(Dipylidium)*. Las proglótides grávidas son las que se encuentran más alejadas del escólex, y en ellas destaca el útero repleto de huevos; la forma y características de este útero permiten establecer el diagnóstico de especie.

En el estróbilo se encuentran el resto de las estructuras típicas de los helmintos (sistema nervioso, excretor, etc.), con la particularidad de que los cestodos carecen de boca y aparato digestivo, circulatorio y respiratorio.

Ciclo biológico

Las tenias, hasta llegar al estado adulto, pasan por diversas fases en un solo huésped *(H. nana)* o, lo que es más frecuente, en diversos huéspedes intermediarios, que son específicos de cada cestodo. Estas fases son:

Huevo o embrióforo. Está provisto de unas membranas y el embrión. Se libera por rotura de las proglótides terminales y sale por las heces al medio externo. La forma y estructura de los huevos permiten el diagnóstico de especie. Tras su ingestión por el huésped intermediario específico pasa a la siguiente fase.

Oncosfera o embrión hexacanto. Está provista de 6 ganchos y sale del huevo al digerir los jugos digestivos la envoltura que la rodea. Merced a sus ganchos atraviesa la pared intestinal y, por vía linfática, circulatoria o parenquimatosa, llega a un determinado punto del huésped, donde evoluciona a la siguiente fase.

Larva. Según las especies puede ser (fig. 79-2):

1. Cisticerco: se forma por crecimiento en una cavidad central del ápex con un escólex en la punta.
2. Cisticercoide: vesícula rudimentaria, con una porción posterior sólida.
3. Cenuro: en el que se desarrollan varios escólex, a partir de la capa germinal de la pared del quiste.
4. Hidátide: la capa germinal produce vesículas hijas, en las cuales las cápsulas prolígeras originan muchos escólex (v. más adelante).
5. Procercoide, larva sólida o pseudoquística, con un apéndice caudal esférico con ganchos.
6. Plerocercoide: en forma de cinta sin ganchos, rudimento de escólex, pero con botridios o hendiduras.

Adulto. Al ingerirse parte o todo el huésped que contenía la larva, la vesícula se desprende o se rompe, y cada escólex se transforma en un cestodo adulto. A nivel del cuello se forma un segmento, luego entre éste y el escólex otro, y así sucesivamente hasta alcanzar, en varios meses, centenares de ellos (no en todas las especies). El escólex y el cuello son estructuras muy importantes, ya que la parasitación persistirá mientras esta porción del gusano permanezca fija

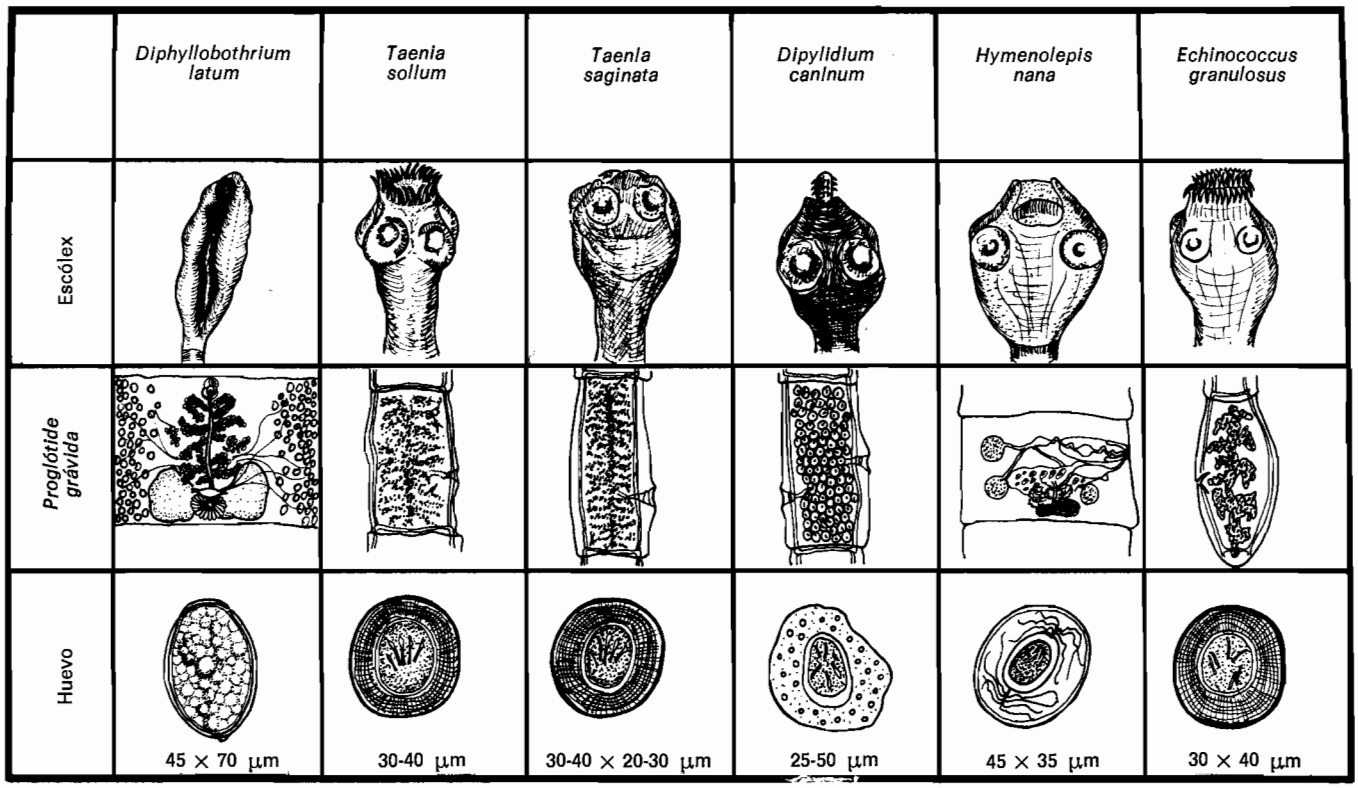


Fig. 79-1. Principales diferencias entre escólex, proglótides y huevos de los cestodos más comunes.

a la pared intestinal, aun cuando la mayor porción del estróbilo se haya desprendido.

Fisiopatogenia

El hombre puede ser parasitado por cestodos adultos y en estos casos es el huésped definitivo, y aquéllos viven fijos a las paredes intestinales merced a las ventosas. El hombre también puede ser parasitado en estado larvario y en este caso es huésped intermediario, y las larvas pueden tener diversas localizaciones: hígado, pulmón, músculos, ojos, etc.

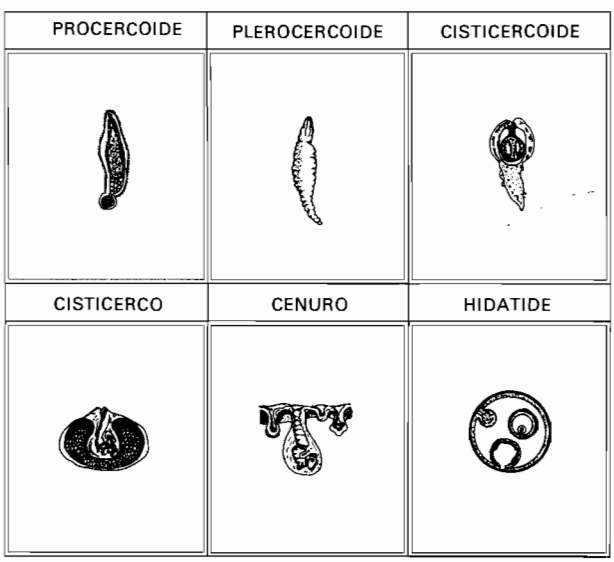


Fig. 79-2. Formas larvarias de cestodos.

Las tenias se encuentran en la luz del intestino delgado (íleon, yeyuno) o más rara vez en la del grueso del huésped, con el escólex (cuya única misión es la fijación) unido a la mucosa. Los gusanos se nutren absorbiendo selectivamente sustancias de los alimentos semidigeridos del huésped, a través de unas vellosidades del tegumento, que se llaman microtriquias. Son conocidas las necesidades de monosacáridos y vitaminas, así como la acumulación parenquimatosa de carbonato cálcico. El metabolismo de los cestodos es fundamentalmente anaerobio, aunque pueden realizar el aerobio, si existe oxígeno. Está demostrado que los huéspedes sometidos a una dieta rica en hidratos de carbono (glucógeno) favorecen el crecimiento de sus cestodos.

Las lesiones producidas en el hombre varían con las especies y con el tamaño y número de los gusanos. En muchos casos, su presencia pasa inadvertida. En otros, los síntomas pueden estar producidos:

1. Por gusanos adultos:

a) Por productos tóxicos del cestodo, responsables de síntomas digestivos indefinidos o nerviosos.

b) Por irritación mecánica intestinal, incluso obstrucción.

c) Por anemias, por pérdida de sangre o no absorción por sustracción de vitaminas (B_{12}), proteínas y, quizás, hormonas.

2. Por larvas:

a) Síntomas de compresión visceral (quiste hidatídico) o de conductos.

Tabla 79-1. Clasificación de los principales cestodos

Subclase	Orden	Familia	Género	Especie
Cestoda	*Pseudophyllidea*	*Dibothriocephalidae*	*Diphyllobothrium*	*D. latum*
	Ciclophyllidea	*Hymenolepididae*	*Hymenolepis*	*H. nana*
		Dilepididae	*Dipylidium*	*D. caninum*
		Taeniidae	*Taenia*	*T. solium*
			Taenia	*T. saginata*
			Echinococcus	*E. granulosus*
			Echinococcus	*E. multilocularis*

b) Invasión de cisticercos en diversos órganos (encéfalo, órbita, etc.).

El huésped responde a la infestación mediante una inmunidad natural o inespecífica (jugos digestivos, etc.) y específica (destrucción de larvas, inmunoglobulinas específicas séricas e IgA intestinal). Los antígenos polisacáridos y proteicos del parásito son los responsables de la aparición de esta inmunidad humoral y celular, demostrable mediante reacciones serológicas e intradérmicas. El diagnóstico definitivo, ya que existen reacciones cruzadas entre los diferentes cestodos, se establecerá con la demostración del parásito (escólex, proglótides o huevos).

Clasificación

Clásicamente, la subclase *Cestoda* se divide en dos órdenes:

1. *Dibothriocephalidea* o *Pseudophyllidea*, caracterizados por poseer un escólex con botridios, poros ventrales y tocostoma, y huevos operculados.
2. *Ciclophyllidea*, cuyo escólex posee ventosas, poros genitales laterales y huevos no operculados.

En la tabla 79-1 se recogen las principales especies patógenas para el hombre.

Desde un punto de vista clínico y didáctico, dividimos los parasitismos por cestodos en dos grandes grupos: las parasitaciones por gusanos adultos y las otras en las que la acción patógena se debe a las fases larvarias del gusano.

PARASITISMO POR CESTODOS ADULTOS

Morfología y ciclo epidemiológico

Taenia solium

Esta tenia, llamada también armada y solitaria (por ser parasitación en la mayoría de los casos única, cuando vive en el intestino), en estado adulto mide de 2 a 8 m y puede llegar a poseer hasta 1.000 anillos. Habita en la posición proximal del yeyuno. Su escólex, de 1 mm de diámetro, es globuloso y está provisto de cuatro ventosas en copa y un rostelo con una doble corona de ganchos, en total unos 25-32. En el intestino humano, en presencia de bilis y pepsina, el escólex se desenvagina y se adhiere a la mucosa, dando lugar al estróbilo.

Las proglótides maduras son cuadrangulares, de 1 × 0,6 cm, y poseen poros genitales unilaterales, que alternan de una forma regular; el útero es poco ramificado (7-14 ramas gruesas a cada lado) (fig. 79-1). Los segmentos se separan en grupos de 5 a 6 del estróbilo y cada uno posee de 30.000 a 50.000 huevos. Estos son esféricos, de 30 a 40 µm de diámetro, con cubierta radiada, estriada, y contienen el embrión hexacanto en su interior. No pueden distinguirse de los de *T. saginata*.

La forma larvaria es un cisticerco, llamado *Cisticercus cellulosae*, que es un quiste translúcido, de 10 × 5 mm, con un escólex invaginado provisto de rostelo y ganchos.

Ciclo epidemiológico. El huésped intermediario habitual es el cerdo, y excepcionalmente el hombre, el cual es el único huésped definitivo (fig. 79-3).

Como vemos, el hombre que ingiere carne de cerdo con cisticercos vivos desarrolla en el intestino una tenia adulta y elimina huevos por las heces, que pasan al medio externo. Este individuo puede autoinfestarse por el mecanismo mano-ano-boca o por fenómenos antiperistálticos, de tal forma que las larvas caminan hacia los músculos (linguales, maseteros, diafragmáticos, etc.), provocando una cisticercosis (se estudia más adelante). La ingestión de huevos maduros por otro individuo puede también producirle cisticercosis. Si el que los ingiere es el cerdo (también los jabalíes, corderos, ciervos, gatos y primates en menor proporción) al alimentarse de residuos, estercoleros, etc., se origina en él la cisticercosis correspondiente, y se cierra así el ciclo.

Taenia saginata

También llamada inerme, mide en estado adulto de 4 a 12 m y llega a poseer hasta 2.000 anillos. Habita en la primera porción del yeyuno. Su escólex de 1-2 mm es piriforme, posee cuatro ventosas elípticas y carece de rostelo y ganchos. Sus proglótides más largas que anchas (16-20 × 5-7 mm) poseen poros genitales alternantes de forma muy irregular y un útero muy ramificado, con un tronco central lon-

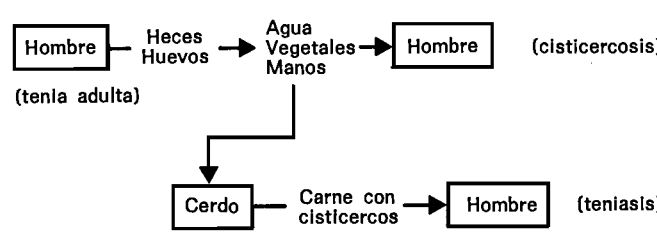


Fig. 79-3. Ciclo de *T. solium*.

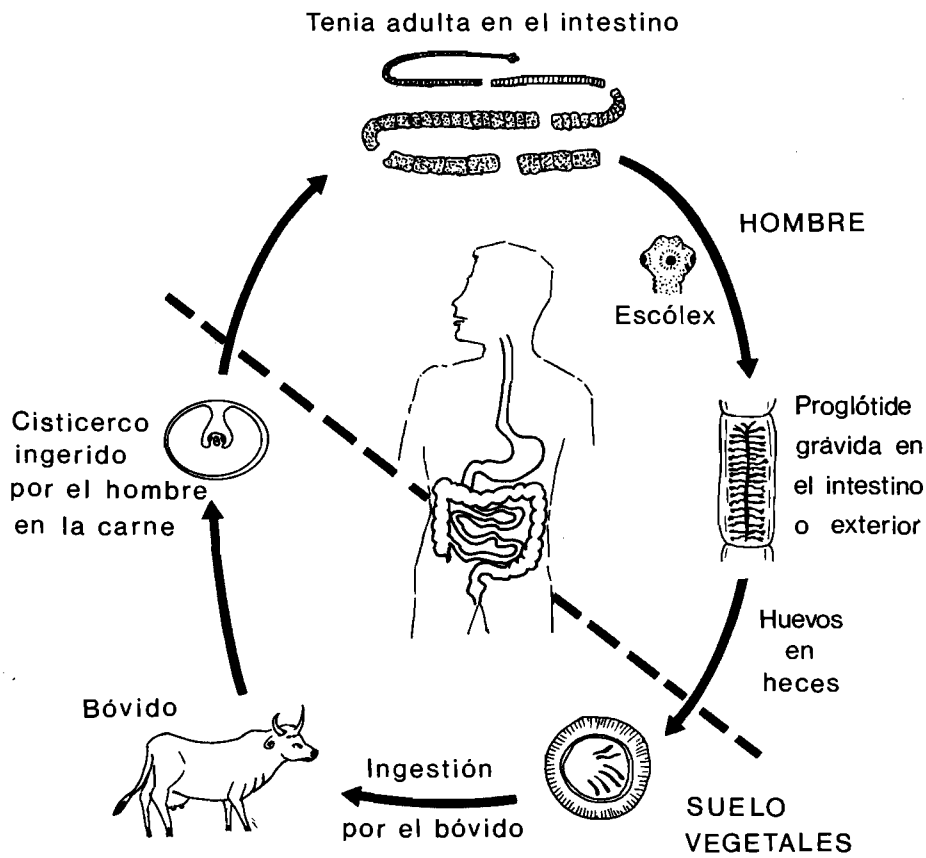


Fig. 79-4. Ciclo de *T. saginata.*

gitudinal y 15 a 30 ramificaciones dicotómicas laterales. Cada segmento puede poseer más de 100.000 huevos. Estos son ovoides, de 30 a 40 × 20 a 30 µm e idénticos a los de *T. solium* (fig. 79-1).

Su larva es un cisticerco llamado *Cisticercus bovis*, cuyo escólex no posee rostelo ni ganchos y que se enquista en el tejido conjuntivo intersticial y corazón del ganado vacuno.

Ciclo epidemiológico. Es similar al de *T. solium*, pero aquí el huésped intermediario es un bóvido y casi nunca el hombre, por lo que la cisticercosis humana es excepcional, quizá debido a la mayor resistencia de los huevos a los jugos digestivos humanos, por lo cual no se libera el embrión hexacanto (fig. 79-4).

Dipylidium caninum

Es un helminto de 10 a 70 cm de longitud y 3 mm de anchura. El escólex es pequeño (300 µm) con 4 ventosas y un rostrum cónico armado de 3 ó 4 coronas de ganchos. Los anillos son más largos que anchos, en forma de pepita, con un doble poro genital. Los huevos, con ganchos en su interior, de 25 a 50 µm, aparecen agrupados de 5 a 30 en una cápsula ovígera. El hombre (afecta sobre todo a niños) se infesta al ingerir cisticercoides que se encuentran en las cavidades de ciertas pulgas (del hombre, del perro o del gato) o el piojo del perro. El perro adquiere también la teniasis al ingerir pulgas infestadas.

Hymenolepis nana

Es el cestodo más pequeño que parasita el intestino humano y mide unos 10-25 mm de longitud y 0,8-1 mm de anchura. Su escólex es globuloso con cuatro ventosas en forma de copa y un rostelo retráctil con una sola corona de ganchos. Las proglótides tienen forma trapezoidal (anchas y muy cortas) y poseen poros genitales en la cara lateral del mismo lado y un útero no ramificado, en forma de saco, con 80-200 huevos.

Los huevos (45 × 35 µm) son algo elípticos, con una membrana externa y otra interna ondulada, que en cada polo presenta un mamelón de los que parten 4-5 filamentos flexuosos, que se extienden entre ambas membranas. Por dentro de la membrana interior, aparece el embrión hexacanto (fig. 79-1).

Ciclo epidemiológico. El huésped definitivo es el hombre y de modo excepcional son huéspedes intermedios (*H. nana* var. *fraterna*) ciertos gorgojos (*Tenebrio molitor* y *T. obscurus*) y pulgas de las harinas (*Asopia farinalis*) u otras pulgas. Los roedores se han encontrado infestados por esta variedad.

Al ser ingeridos los huevos que están en el agua, verduras, pan, etc., se libera la oncosfera en el intestino delgado y penetra en las vellosidades, dando en cuatro días una larva cisticercoide (ciclo directo o monoxénico); de ahí, vuelve a la luz intestinal, donde se adhiere por su escólex a la mucosa de los dos tercios superiores del íleon, y se convierte en

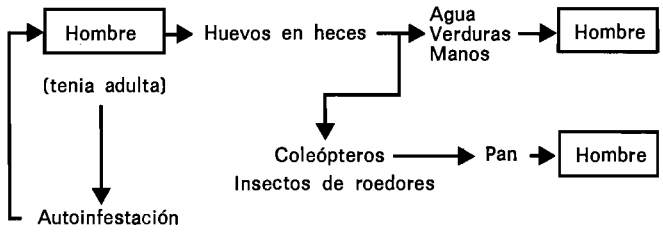


Fig. 79-5. Ciclo de *H. nana*.

10 días en un gusano estrobilado. Un mes después aparecen proglótides grávidas en el intestino y huevos en las heces (fig. 79-5). La autoinfestación interna se produce por la maduración de la oncosfera en el tubo intestinal, en vez de salir del huésped con las heces. Este ciclo endógeno explica la cantidad extraordinaria de ejemplares que pueden parasitar a un individuo. El denominado «efecto de hacinamiento» es muy patente en *H. nana:* el tamaño de los gusanos es inversamente proporcional al número de los presentes.

Hymenolepis diminuta es un parásito cosmopolita habitual del intestino de los roedores y que sólo por accidente parasita al hombre. Requiere artrópodos como huéspedes intermediarios (pulgas, gorgojos o cucarachas).

Diphyllobothrium latum

Es un cestodo de 2 a 10 m de longitud, aunque puede llegar a los 20 m y poseer 4.000 proglótides. Su nombre viene del griego *dis,* doble; *phyllon,* hoja, y *bothros,* acanaladura o ventosa. Se le conoce también como botriocéfalo.

Su escólex piriforme posee dos hendiduras laterales o botridios, que siguen el eje longitudinal del gusano y funcionan como ventosas (fig. 79-1). Los anillos son trapezoidales, más anchos que largos *(latum);* poseen un característico útero en forma de roseta y un poro genital ventral y otro de postura (tocostoma), por donde se vacían los huevos al intestino, en cifras de hasta 1 millón diarios. Los huevos de 45 × 70 µm son elipsoides, pardoamarillentos, operculados por un extremo y con un mamelón en el otro; en su interior hay una oncosfera oculta entre las células vitelógenas.

Ciclo epidemiológico. Este helminto posee un complicado ciclo biológico en el que intervienen dos huéspedes intermediarios (fig. 79-6 y 79-7). A temperatura favorable (26-28 °C), los huevos maduran en 9-12 días; después de llegar al agua, el embrión sale por el opérculo en forma de embrióforo ciliado o *coracidio,* que nada libremente hasta que es ingerido por un crustáceo de agua dulce, copépodo, de los géneros *Cyclops* o *Diaptomus,* en el cual pierde sus cilios, penetra por la pared intestinal y llega a la cavidad del cuerpo, donde crece de 55 a 500 µm, pues se transforma en larva *procercoide* alargada.

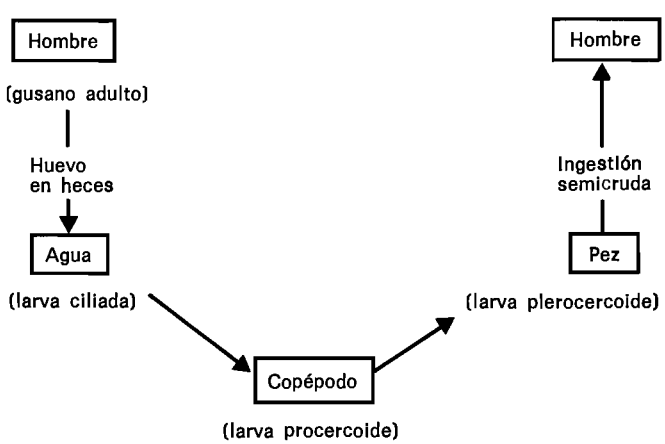


Fig. 79-6. Ciclo de *D. latum.*

Cuando el copépodo afectado es ingerido por determinadas especies de peces de agua dulce (salmón, trucha, lucio, perca, rodaballo, anguila, etc.), las larvas procercoides atraviesan la pared intestinal y parasitan las vísceras y músculos de dichos peces. En 1-4 semanas se transforman en larvas *plerocercoides,* de forma alargada y pseudosegmentada de 10-20 × 2-3 mm.

Al ingerirse, crudos o mal cocidos, estos peces infestados o sus huevas (caviar y sucedáneos) por un mamífero huésped, la larva se adhiere a la pared intestinal (del íleon principalmente) y crece al ritmo de 30 proglótides por día, hasta alcanzar la madurez en 3-5 semanas. Más de 25 especies de mamíferos pueden así infestarse: hombre, perro, gato, cerdo, etc.

Es una parasitosis mundialmente extendida y parece que está en aumento por la costumbre de comer pescado ahumado o semicrudo, en Estados Unidos, Canadá, Rusia, Escandinavia y Finlandia. También puede contraerse al limpiar pescados y llevarse después las manos a la boca.

Clínica

La parasitación por tenias adultas puede no dar lugar a síntoma alguno, o bien es posible que aparezcan síntomas gastrointestinales inespecíficos (dolor epigástrico, molestias vagas abdominales, diarreas, anorexia, etc.) o nerviosos (cefaleas, convulsiones, vértigo, náuseas, vómitos, etc.), debidos, al parecer, a la irritación de las terminaciones nerviosas intestinales. Para algunos autores, en los niños, el retraso en el peso y en la talla, comparado con las medias normales, serían datos de gran interés.

En *T. saginata* no es infrecuente que un sujeto parasitado acuda muy asustado al médico por haber emitido espontáneamente (fuera de la defecación) algunos segmentos contráctiles aislados, como pepitas de calabaza. La obstrucción intestinal aguda o una apendicitis mecánica pueden ser también el primer síntoma de la parasitación, y el diagnóstico tiene lugar en el quirófano.

En algunos enfermos de *D. latum* (se calcula el 1 ‰ de los infestados en Finlandia), lo que destaca es el cuadro de anemia hipercrómica perniciosiforme. Se ha demostrado que el botriocéfalo, a menos de 145 cm de la boca, compite con ventaja frente al huésped en la absorción de la vitamina B_{12}, lo que produce el cuadro anémico pernicioso. Además, se ha comprobado que *D. latum* absorbe del 80 al 100 % de una dosis única de vitamina B_{12} radiactiva, administrada al huésped.

Diagnóstico

Se establecerá mediante la demostración del parásito, si éste es eliminado total o parcialmente por el sujeto (buscar

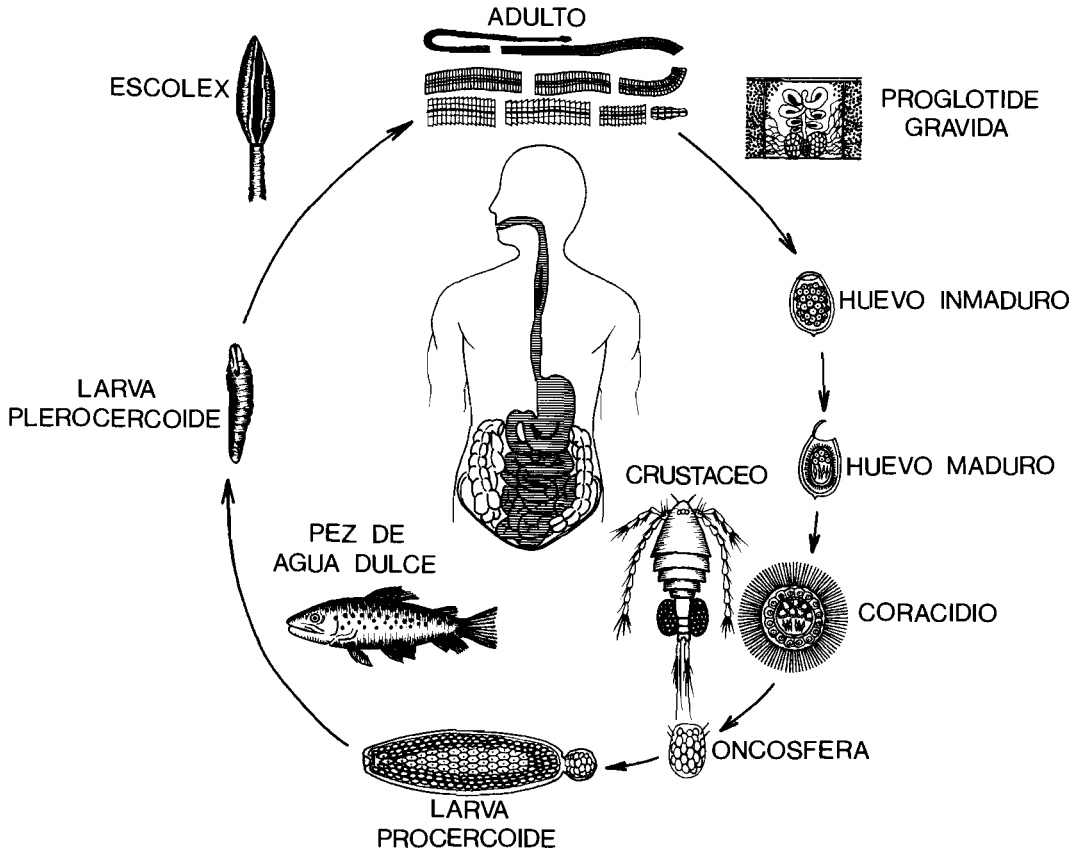


Fig. 79-7. Ciclo de *D. latum*.

cuidadosamente el escólex), o de los huevos en las heces. El examen macroscópico de las heces puede permitir la demostración de las proglótides en cadenas (*T. solium*) o aisladas y contráctiles (*T. saginata*). Tanto las heces como los segmentos recogidos serán remitidos al laboratorio en agua y nunca en alcohol. Se estudiarán los anillos, su forma, ramificaciones del útero, poro genital, etc. El diagnóstico diferencial de los parásitos y de los huevos (demostrables por técnicas previas de enriquecimiento) se muestra en la figura 79-1.

Tratamiento

Puede usarse niclosamida, a dosis de 2 g al día, en dos tomas con intervalo de 1 hora, durante 5 días; también paromomicina (45 mg/kg y día, 7 días), clorhidrato de quinacrina (Atebrina, 0,8 g en dos dosis separadas por media hora) o mebendazol. Añádase siempre un purgante salino para eliminar todo el gusano y un antivomitivo para evitar la regurgitación de huevos y el consiguiente peligro de cisticercosis.

Profilaxis

Se basa en el tratamiento de los sujetos parasitados y saneamiento del medio (heces y aguas). En el caso de *T. solium* y *T. saginata* es muy importante la inspección veterinaria de los cerdos y ganado bovino, respectivamente. Los cisticercos de ambas se destruyen por el calor (45 °C) o por congelación (más de 12 horas a −20 °C). En zonas geográficas de parasitación por *D. latum* se prohibirá la ingestión de pescados crudos; las larvas en este caso requieren un calentamiento superior a 50 °C o congelación a −10 °C durante 1 día para hacerlas inviables; la desecación también es útil.

El control sanitario de los alimentos, la desinsectación, la desratización (*H. nana*) y la educación sanitaria de la población serán medidas importantes de prevención inespecífica.

PARASITISMOS POR FASES LARVARIAS DE CESTODOS

Cisticercosis

Entendemos por cisticercosis humana la presencia de larvas de tenias en un individuo, acompañadas o no de tenias adultas. *Cisticercus cellulosae* representa la fase larvaria de *T. solium* y *C. bovis*, de *T. saginata*. Esta última es excepcional en el hombre.

Didácticamente, recordaremos que la ingestión de cisticercos en la carne animal da lugar al cuadro clínico de la teniasis y la ingestión de huevos, el de cisticercosis.

El cisticerco es un quiste translúcido oval, con un escólex invaginado de cuatro ventosas y un círculo de ganchos. Puede tener o no una cápsula envolvente. Su tamaño varía de 5 a 50 mm de diámetro (según localización), y por transparencia puede observarse un punto denso y blanco en el interior, que corresponde al escólex.

El hombre puede adquirir la enfermedad por dos mecanismos:

1. Ingestión de huevos, procedentes del suelo, heces, agua, verduras, frutas o manos de un portador.
2. Autoinfestación por manos sucias o por regurgitación o antiperistaltismo de proglótides o huevos que lleguen al estómago y liberen la oncosfera.

En un caso u otro, la oncosfera atraviesa la mucosa intestinal, llega a los vasos y por la corriente sanguínea puede diseminarse por todo el organismo y dar cisticercos en cerebro, músculos estriados, ojos, corazón, tejido celular subcutáneo, pulmón, peritoneo, etc.

El quiste produce una reacción inflamatoria que forma una cápsula fibrosa alrededor de él. Al morir la larva, puede calcificarse, lo que es frecuente en los músculos, ojos e, incluso, cerebro.

Los síntomas dependen de la localización y extensión de las lesiones. Tras una fase silente de 5-8 años o muchos más, aparecen signos que, en la mayoría de los casos, sugieren un síndrome tumoral y, en el caso de la cisticercosis cerebral, además, un síndrome epileptiforme de aparición tardía.

La forma más grave y frecuente (40 % de las localizaciones) es la cisticercosis cerebral; puede adoptar la forma quística clásica o la *racemosa*, cuando el único modo de expansión del quiste se produce en las anfractuosidades de las cisternas basales y espacios subaracnoideos. Esta forma racemosa se caracteriza por no presentar escólex (acéfaloquistes). La enfermedad es más frecuente en adultos jóvenes (20-40 años). Los síntomas principales son crisis convulsivas, deterioro mental, hipertensión craneal, meningitis, etcétera.

El diagnóstico se puede realizar por radiografía (si hay quistes calcificados), ventriculografía, tomografía computorizada, oftalmoscopia o biopsia subcutánea. La eosinofilia suele faltar, pero la presencia de eosinófilos en LCR es enormemente significativa. Las reacciones serológicas (RFC, hemaglutinación, inmunofluorescencia) ayudan al diagnóstico, así como la intradermorreacción realizada con escólex de cisticercos.

El tratamiento es quirúrgico y la profilaxis, la de la teniasis correspondiente, con especial educación de los sujetos parasitados, para que extremen las medidas de saneamiento.

El uso del praziquantel, a dosis de 50 mg/kg al día, durante 6 días, ha mejorado claramente el pronóstico de la cisticercosis.

Echinococcus granulosus

Es el cestodo más pequeño de interés médico (1,5-6 mm), pero también el más importante en nuestro medio.

Posee un escólex globuloso con cuatro ventosas y un rostelo prominente de doble corona de 30-40 ganchos. La cabeza se continúa con 3 ó 4 proglótides; la primera con los órganos sexuales inmaduros, la segunda algo más larga con éstos desarrollados y las últimas ya maduras y con un útero medial de 12-15 ramas distendidas, con unos 500 huevos. El huevo de 30-40 µm es semejante al de las otras tenias, con el embrión hexacanto en el interior; puede vivir libre más de 1 año en el suelo, verduras, etc.

Ciclo vital

El gusano adulto se encuentra principalmente en el perro y también en el lobo, chacal, coyote, zorro y otros carnívoros, que constituyen el huésped definitivo. En el perro, las tenias fijadas en la mucosa intestinal eliminan numerosos huevos por las heces. Unos pasan al suelo y las aguas residuales; otros quedan en las márgenes del ano, y como el animal se lame con frecuencia esta zona y pasa luego la lengua por las patas y otras zonas del cuerpo, las contamina con los huevos del verme. El hombre, mujer o niños que juegan con el perro o se dejan lamer por él se infestan directamente; en otros casos, los huevos llegan por el agua de bebida, verdura o alimentos crudos (fig. 79-8).

Cuando el huevo es digerido por el huésped intermediario (el hombre o cualquier mamífero hervíboro u omnívoro), el embrión, liberado de su membrana quitinosa por el clorhídrico gástrico, atraviesa la pared intestinal, pasa a los linfáticos o vénulas mesentéricas y es arrastrado por el torrente circulatorio a cualquier parte del organismo. Por orden de frecuencia se aloja en el hígado (65-75 % de los casos), ya que por las raíces de la porta llega en primer lugar. Si salta esta barrera, puede llegar por las venas suprahepáticas, cava inferior, corazón derecho y arteria pulmonar al pulmón (22-30 %), la segunda localización en frecuencia tras la hepática. También se ha explicado esta localización por la aspiración de huevos con el polvo, que proviene de rebaños de ovejas y cabras, con sus perros guardianes. Si saltara también esta barrera, pasaría a la circulación de sangre arterial y de ahí a cualquier parte del organismo: peritoneo (10 %), riñón (3 %), huesos (2 %), cerebro (1 %), bazo, globo ocular, corazón, tiroides, músculos, etc.

Si no es destruido el embrión por los macrófagos, pierde los ganchos y sufre vesiculación central, transformándose en quiste o hidátide de unos 10 mm de diámetro, en 5 meses. Dicho quiste es una vesícula redondeada, que va creciendo de modo progresivo y conocemos clínicamente como *quiste hidatídico* (fig. 79-9).

Un quiste, de 1 hasta 20 cm de diámetro, consta de fuera a dentro de:

1. *Cutícula externa*, de 1 mm de espesor, hialina y formada por láminas concéntricas compuestas por mucopolisacáridos. Permite el paso de coloides y cristaloides, pero no de bacterias.
2. *Membrana germinativa*, interna, granulosa, de 12-25 µm de espesor. A partir de ella se desarrollan todos los elementos de la hidátide. En la ultraestructura de esta membrana se diferencian tres regiones: *a)* El tegumento, sincitio formado por la unión del citoplasma de las células tegumentarias. *b)* Las células tegumentarias. *c)* El sector interno, formado por diferentes células (células musculares, células ricas en glucógeno y lisosomas, y células «en llama», con sus conductos excretores).
3. Un líquido incoloro o amarillo claro, el *líquido hidatídico*, del que se dice que es como «agua de roca». Es de pH neutro, de densidad de 1.007-1.012 y rico en cloruro sódico, glucosa, iones, lípidos, proteínas y polisacáridos de carácter antigénico. Puede contener en su interior escólex y ganchos desprendidos, de típico aspecto de espina de rosal, y vesículas desprendidas (barro o arenilla hidatídica).
4. *Vesículas prolígeras*, que sólo tienen capa germinal (no membrana externa) y contienen protoescólices en su inte-

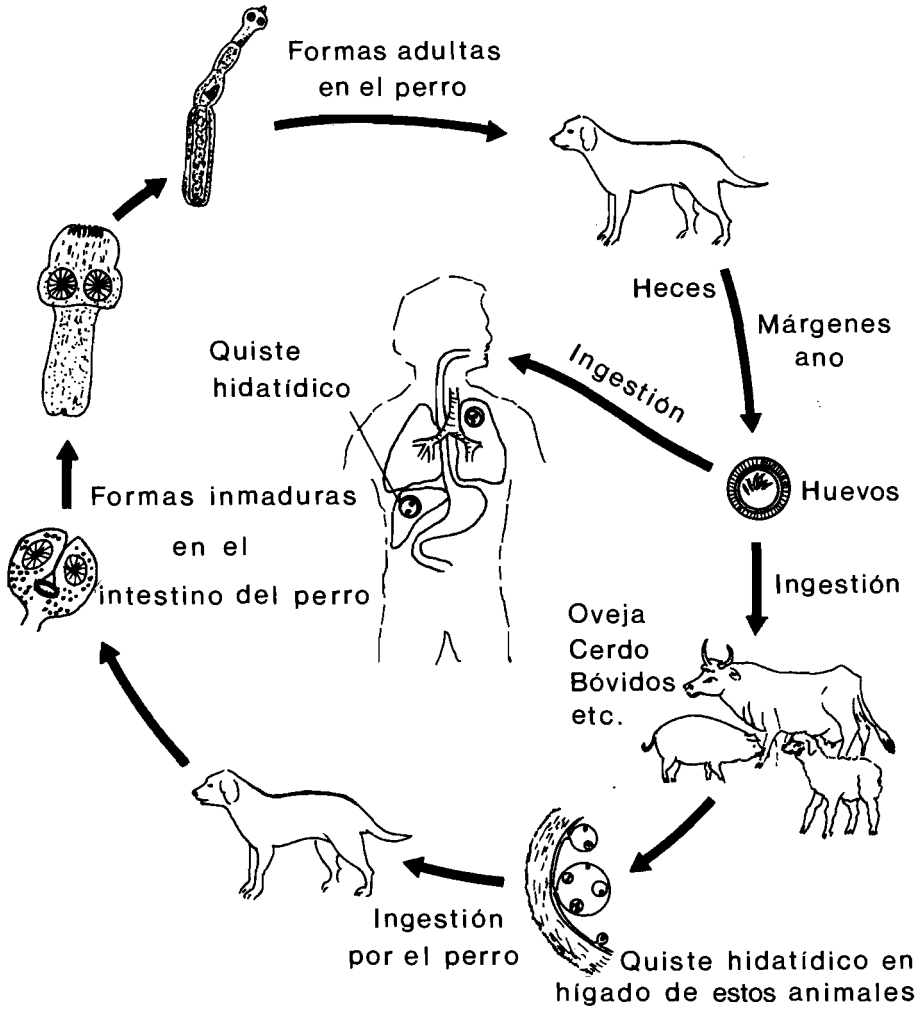


Fig. 79-8. Ciclo vital de *E. granulosus*.

rior de 250-500 μm de tamaño. Nacen a expensas de la membrana germinativa. Hay quistes donde las cápsulas prolígeras nunca producen escólices y entonces se denominan acefaloquistes.

5. *Escólices*, que se encuentran unidos por un pedículo o tallo a la pared de la vesícula prolígera, o flotan en el líquido de las vesículas prolígeras o de las vesículas hijas. Tienen 200 μm y poseen cuatro ventosas, una doble corona de ganchos y un cuerpo no segmentado.

6. *Vesículas hijas*, que nacen a partir de restos de la membrana germinativa y contienen los mismos elementos que la hidátide madre: membrana externa, interna o germinal, líquido, vesículas prolígeras y escólices. De ahí que pueden existir incluso vesículas «nietas». Las vesículas hi-

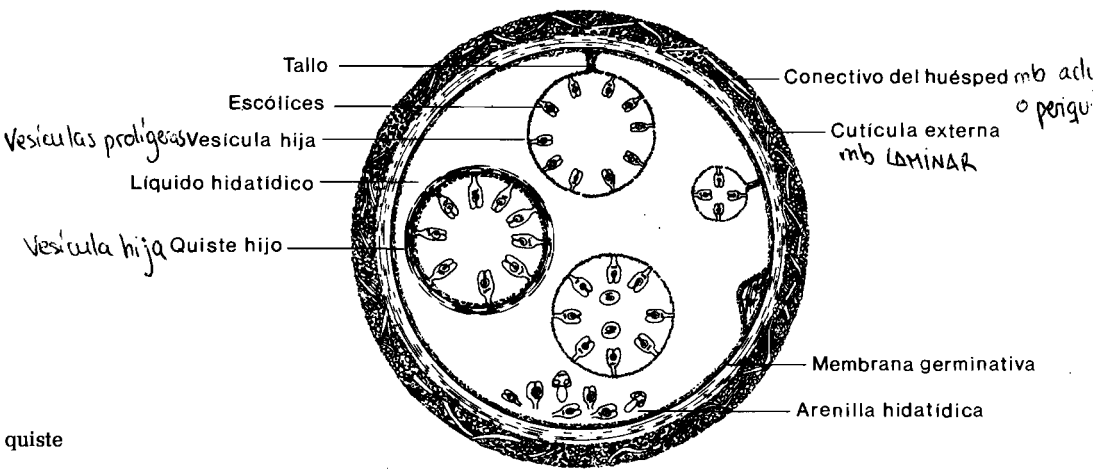


Fig. 79-9. Estructura de un quiste hidatídico.

jas pueden ser, como en este caso, endógenas (hacia el interior del quiste), pero también exógenas (hacia el exterior), lo que no es infrecuente en el quiste óseo.

Cuando las vesículas prolígeras se rompen, los escólices escapan al líquido hidatídico y dan lugar a la «arenilla» hidatídica. Un quiste fértil contiene unos 2 millones de escólices. Estos pueden ser:

1. Ingeridos por carnívoros y desarrollar tenias adultas.
2. Si el quiste se rompe dentro del huésped, cada escólex se desarrolla y crea un nuevo quiste: es la hidatidosis secundaria. Esto puede suceder espontáneamente, por ejemplo, tras una vómica en la que un enfermo expulsa un líquido claro, salado y con membranas por la boca, y al cabo de semanas o meses aparecen muchas sombras redondeadas en la radiografía torácica, señal de la implantación de los escólices desparramados con la vómica. También puede suceder esto, si a un cirujano, al intentar extirpar un quiste hidatídico, se le rompiera éste en el peritoneo del sujeto, lo que daría lugar a una hidatidosis diseminada peritoneal.

El quiste provoca una reacción inflamatoria de los tejidos vecinos que lo encapsulan con una adventicia fibrosa. Entre ésta y la hidátide existe un plano de desprendimiento quirúrgico.

Epidemiología

Los ciclos epidemiológicos posibles de la equinococosis son múltiples (fig. 79-10): el más clásico es el perro-oveja; en las zonas polares sería lobo-rumiantes, y en Escandinavia es perro-renos. En Alaska y Canadá, el ciclo afecta al lobo y diversos cérvidos. Y es que, para que se pueda desarrollar favorablemente el ciclo de *E. granulosus*, es necesaria la concurrencia de factores climáticos, ecológicos, económicos, religiosos y sociales.

La frecuencia de la equinococosis humana en nuestro medio depende de la íntima relación entre el hombre y los perros. El peligro de parasitación es veinte veces mayor en los dueños de perros que en el resto de la población y aún mayor en los pastores, entrenadores de galgos, personal de perreras, etc.

Es una parasitosis mundial, que aparece en toda Europa, especialmente región mediterránea, y zonas de América, Asia, Africa y Australia. En España se calculan de 1.000 a 2.000 los casos humanos anuales nuevos (alta tasa de infestación), y predominan en La Mancha, Castilla, Aragón y Levante. La cifra media nacional de infestación animal es de un 15 % de perros y bóvidos, 20 % de ovinos y 16 % de suinos. La localización pulmonar es la más frecuente en el ganado lanar y la hepática lo es en el vacuno.

Los huevos llegan por vía mano-boca y a las manos del hombre por la piel de perros infestados o contaminados por lamido de otros o arrastrarse por el suelo contaminado de heces parasitadas. El otro mecanismo es la ingestión de agua, frutas, verduras, etc., contaminadas, y pueden desempeñar algún papel las moscas y mosquitos que transmiten pasivamente los huevos.

Clínica

Los síntomas vienen dados unas veces por la *presión*, que puede llevar a los más distintos cuadros clínicos según la localización y las consecuencias de ella: hemorragias, atrofias, necrosis por compresión vascular, hipertensión craneal, ictericia por compresión de las vías biliares, etc. En resumen, un tumor redondeado más o menos silente, que da síntomas compresivos. Esto planteará problemas clínicos diferenciales con neoplasias, abscesos, quistes, etc. Otras veces, el cuadro clínico depende del grado de *afectación* de los órganos: síntomas neurológicos, insuficiencia hepática, renal, etc.

En algunos casos, los primeros síntomas coinciden con la *rotura* del quiste. Aparecen debido a tos, tensión muscular, traumatismos, punciones, etc. Los quistes hepáticos generalmente se abren hacia la cavidad abdominal, pero pueden hacerlo también a la pleura y vesícula o vías biliares. Los quistes pulmonares se abren a un bronquio y dan una vómica, caracterizada por un violento acceso de tos y salida de

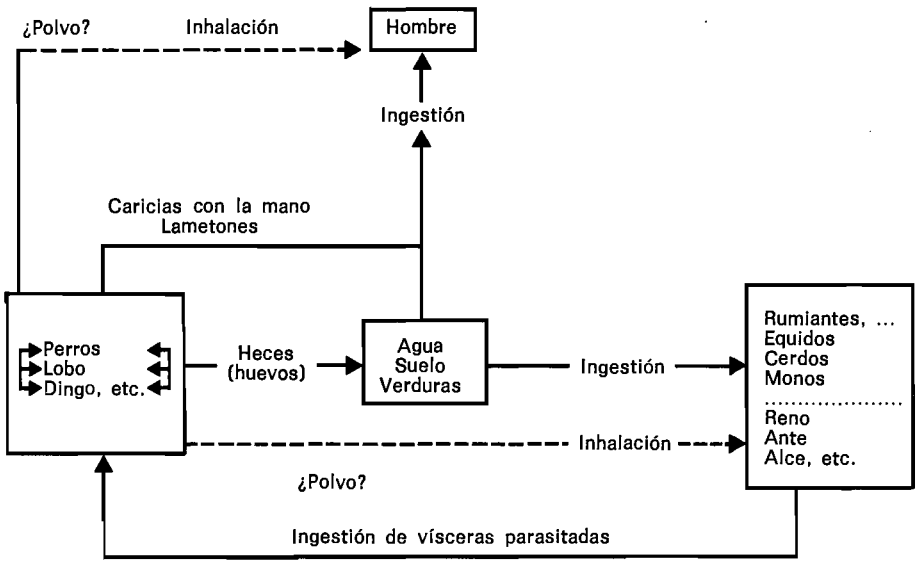


Fig. 79-10. Ciclo epidemiológico de la equinococosis hidatídica.

líquido acuoso, sangre y membranas con escólex y ganchos hidatídicos. Los quistes renales pueden abrirse a las vías urinarias. Pero los primeros síntomas de una rotura de quiste son casi siempre los de naturaleza alérgica. La salida brutal del líquido, en un sujeto cuyo sistema inmunocompetente está hipersensibilizado, puede desencadenar desde un shock anafiláctico mortal hasta reacciones dérmicas o viscerales de lo más variado: urticaria, prurito, fiebre, trastornos gastrointestinales, delirio, dolores abdominales, disnea, cianosis, etc.

Los quistes rotos pueden *infestarse* secundariamente por bacterias y dar entonces síntomas de abscesos purulentos.

Otra complicación es la *calcificación*, por depósito de sales de calcio. Esto es frecuente en hígado y bazo, pero rarísimo en el pulmón. Cuando los quistes se calcifican, dejan de causar molestias, y normalmente ya no se precisa la intervención quirúrgica. Dan una típica imagen radiológica en «bola de billar».

Los quistes óseos presentan unas características diferentes. El crecimiento sigue las líneas de menor resistencia, a lo largo de los conductos óseos, e invade la cavidad medular. Aparecen como más afectados los huesos largos, iliaco, vértebras y costillas. Hay destrucción de trabéculas, necrosis y fracturas espontáneas. El diagnóstico es difícil, por su lento crecimiento y dificultad de diferenciarlos de otros procesos óseos.

Diagnóstico

Los datos clínicos antedichos se completarán con un estudio radiológico (radioscopia, radiografía simple, tomografía, angiografía, etc.) y los métodos más modernos y útiles de la gammagrafía, ecografía y tomografía axial computorizada. Se buscarán los antecedentes epidemiológicos de contacto con perros.

En el laboratorio, aparte una eosinofilia orientadora, que falta en el 75 % de los casos (sí tienen valor cifras por encima de los 300 eosinófilos por mililitro), estableceremos un diagnóstico:

Directo. Se obtiene mediante el hallazgo en heces (rotura de un quiste en vías biliares), expectoración (vómica) u orina de escólex, ganchos, vesículas, etc. La extirpación quirúrgica permite el diagnóstico absoluto. No debe nunca puncionarse un quiste, por el peligro de reacción alérgica.

Indirecto. *Intradermorreacción de Casoni (1911).* Es positiva en el 80 % de los casos. Con la inyección de un antígeno estandarizado (0,2-0,5 ml) se comprueba una reacción precoz a los 15-30 minutos, en forma de roncha, como respuesta a los polisacáridos hidatídicos. La reacción tardía, con edema y eritema, aparece a las 18-24 horas en respuesta a las proteínas del líquido; parece la más específica.

Reacciones serológicas. El principal problema es la utilización de antígenos estandarizados. De la multitud de técnicas propuestas citaremos las más importantes:

a) Reacción de fijación de complemento de Weimberg. Positiva del 4 al 44 % de los casos, se hace negativa rápidamente tras la extirpación del quiste, por lo que tiene valor como test de curación.

b) Reacción de aglutinación. Consiste en fijar el antígeno sobre partículas inertes (colodión, bentonita, látex, etc.) o hematíes de conejo o de cordero sensibilizados, provocando la aglutinación por el inmunosuero problema. La aglutinación de partículas de látex sensibilizadas es una técnica de gran utilidad y eficacia en los estudios seroepidemiológicos de masas.

c) Reacciones de precipitación, de las que existen diversas variedades. Pueden efectuarse en medio líquido con el antígeno y el suero, pero son más sensibles las de gel-precipitación por doble-difusión, electroforesis contracorriente o inmunoelectroforesis; esta última proporciona un 100 % de especificidad, cuando aparece un característico arco (arco 5 de Capron). Por último, puede realizarse la microprecipitación de escólex con el suero problema.

d) Reacción de inmunofluorescencia indirecta, que es muy específica.

e) Técnicas de enzimoinmunoensayo (ELISA), de alta sensibilidad. Permiten la detección de IgG e IgM.

f) La prueba de desgranulación de basófilos humanos es de alta sensibilidad y especificidad, y ha sido utilizada como test de confirmación.

En el momento actual, la metodología usada es emplear un test de cada una de las grandes categorías serológicas existentes (tests clásicos, test de inmunofluorescencia y test de gel-precipitación). La más recomendada es realizar una hemaglutinación pasiva, inmunofluorescencia e inmunoelectroforesis.

Tratamiento

El tratamiento de los quistes hidatídicos uniloculares es quirúrgico; la localización del quiste determina el procedimiento quirúrgico que hay que seguir. Debe tomarse precaución extrema para evitar la rotura y vaciamiento del quiste hacia los tejidos o serosas. El tratamiento médico con mebendazol parece tener éxito, y se han conseguido curaciones comprobadas inmunológica y quirúrgicamente, a dosis de 30-50 mg/kg y día.

Profilaxis

Se centrará en los perros: censo efectivo de éstos, evitar su acceso a los mataderos, impedir la venta clandestina de carnes, tratar a los parasitados con clorosalicilamida y destruir por incineración los despojos y carnes con quistes.

El hombre evitará los contactos con perros y la educación sanitaria de la población en hábitos higiénicos será la medida más útil.

Echinococcus multilocularis

Los quistes alveolares, fase larvaria del *E. multilocularis*, constituyen una variedad de quiste hidatídico, que da lugar a la *hidatidosis alveolar*, maligna o «bávaro-tirolesa».

Los huéspedes definitivos son los zorros (común y azul), perros (incluidos los de los trineos) y gatos, y los intermediarios, los ratones domésticos y de campo, y el hombre de una forma accidental, que consume los huevos que a partir de animales parasitados contaminan los vegetales, verduras y frutas, del tipo de la fresa o frambuesa (fig. 79-11).

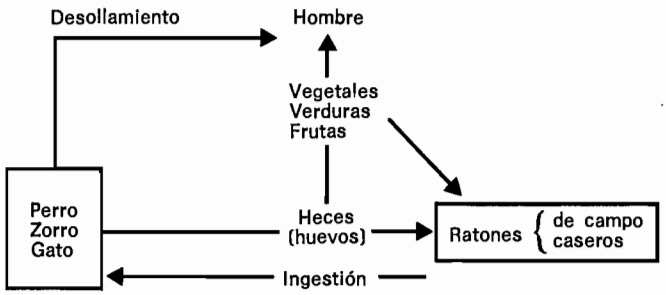


Fig. 79-11. Ciclo de la equinococosis alveolar.

El gusano adulto de *E. multilocularis* vive en el intestino de los zorros y cánidos, con 3 a 6 mm de longitud, y expulsa huevos similares a los de las otras tenias, que son muy resistentes al frío.

El quiste se localiza en el hígado humano y da lugar a microvesículas rodeadas por una membrana laminada mal separada de las zonas vecinas sanas, y se nota casi siempre la ausencia de escólex en el interior. Mediante prolongaciones de la membrana germinativa, las microvesículas infiltran el tejido hepático cercano y dan lugar a una masa esponjosa, porosa, de cavidades pequeñas e irregulares, que empieza a necrosarse y calcificarse en el centro, pero continúa creciendo por la periferia. El hecho de metastatizar por extensión directa, linfática o hematógena lo hace aún más parecido a una neoplasia.

La enfermedad, que clínicamente es un tumor hepático, se presenta en focos en Europa Central (Alemania, Austria, Suiza, Francia, Rusia, Siberia y en el hemisferio norte de América desde el estado de Iowa hasta Alaska). Se declaran casos aislados en otras zonas del mundo.

Para el diagnóstico es útil el hepatograma y las mismas pruebas inmunológicas que las de *E. granulosus*. El único tratamiento, a veces difícil, es el quirúrgico.

Variedades similares son los casos de hidatidosis alveolar en Sudamérica (Argentina, Uruguay y Chile), por *Echinococcus patagonicus* y *E. oligarthus*, cuyos huéspedes definitivos son el puma y el jaguar, y los intermediarios, los roedores silvestres.

BIBLIOGRAFIA

Aparicio, J.: Técnicas de laboratorio en Parasitología Clínica. Marban, Madrid, 1966.

Atias, A: Teniasis y cisticercosis. En Atias, A., y Neghme, A. (dirs.): Parasitología Clínica. Intermédica, Buenos Aires, 1979.

Faust, E. C.; Russel, P. F., y Jung, R. C.: Parasitología Clínica. Salvat Editores, Barcelona, 1974.

Piédrola, G.; Bravo, J., y Amaro, J.: Helmintiasis transmisibles por vía oral de localización intestinal. En Piédrola, G., y cols. (dirs.): Medicina preventiva y social. Amaro, Madrid, 1980.

Torres Rodríguez, J. M.; Guisantes, J. A., y Yarzabal, L. A.: Hidatidosis: nuevos conceptos sobre una antigua enfermedad. Med. Clin., 74, 69-77 y 287-295, 1980.

Varela-Díaz, V. M.; Coltorti, E. A.; DeZavaleta, O.; Pérez, H.; Zabert, E. I., y Guarnera, E. A.: Immunodiagnosis of human hydatid disease: applications and contributions to a control program in Argentina. Am. J. Trop. Med. Hyg., 32, 1079-1087, 1983.

Capítulo 80

Nematodos. Nematodos intestinales

Gonzalo Piédrola-Angulo

Nematodos

Son gusanos cilíndricos y alargados, de simetría bilateral primaria, no segmentados y con sexos separados.

Morfología

Los nematodos (de *nemas*, hilo, y *oedes*, similar, parecido) son gusanos filiformes, con un extremo anterior, provisto de papilas (para fijarse en los tejidos o abrirse paso en ellos), ganchos, placas o dientes, y otro posterior, de morfología variable (fig. 80-1).

Están rodeados de una cutícula externa, hialina, e interna, epitelial, por debajo de la cual se encuentra una capa músculo-cutánea, formada por fibras musculares longitudinales que permiten el típico movimiento sinuoso. Esta pared delimita una cavidad general o celoma, que aloja el resto de las estructuras. El aparato digestivo comienza en la boca, situada en la extremidad anterior y rodeada de labios o papilas o dientes. El esófago, muscular, suele terminar en un abultamiento o bulbo que permite la identificación de especies. El intestino se extiende del esófago al recto y va a terminar por la cloaca en el ano, situado en el extremo caudal del gusano.

El sistema excretor y nervioso (en el que destaca el collar esofágico ganglionar, del que nacen 12 troncos nerviosos que se reparten por toda la estructura del parásito), como el reproductor, son sencillos, pero bastante completos. Carecen de aparato respiratorio y circulatorio. Mientras que, en el macho, el intestino y el conducto eyaculador desembocan en una cloaca común, en la hembra el útero o úteros se continúan con una vagina que desemboca en una vulva, situada en la cara ventral, a diferentes niveles según las especies; algunas especies son vivíparas (triquina) u ovivíparas (*Strongyloides*), pero la mayoría son ovíparas.

Ciclo vital

En los nematodos se puede encontrar una gran variedad de tipos de ciclos vitales. La mayoría de ellos tienen un huésped definitivo, y se produce la transmisión a otro (de una misma especie o huésped intermediario) por ingestión de huevos, ingestión de larvas, penetración de éstas a través de la piel o mucosas, o a través de un huésped intermediario (artrópodo), en el que sufre un ciclo más o menos complicado.

Los huevos eliminados por las heces, orina, esputo, piel etc., se convierten en larvas, que presentan diversas mudas o fases hasta invadir al nuevo huésped. En algunas especies, el huevo es la única forma infestante.

Fisiopatología

El mayor número de helmintos parásitos del hombre pertenecen al grupo de los nematodos. Muchos de ellos son productores de enfermedades humanas muy importantes por su frecuencia o su gravedad.

El efecto patógeno de los nematodos depende, como en todas las parasitosis, de la cantidad de vermes y de su localización. Así, la parasitación puede ser única, por gran cantidad de helmintos de la misma especie e incluso por distintas especies de nematodos. La localización influye en gran manera, por una parte, porque los parásitos (o sus larvas) de la luz intestinal producen menos alteraciones que los tisulares y, por otra, porque aquélla explicará la sintomatología de los órganos afectados, que pueden ser muchos en el caso

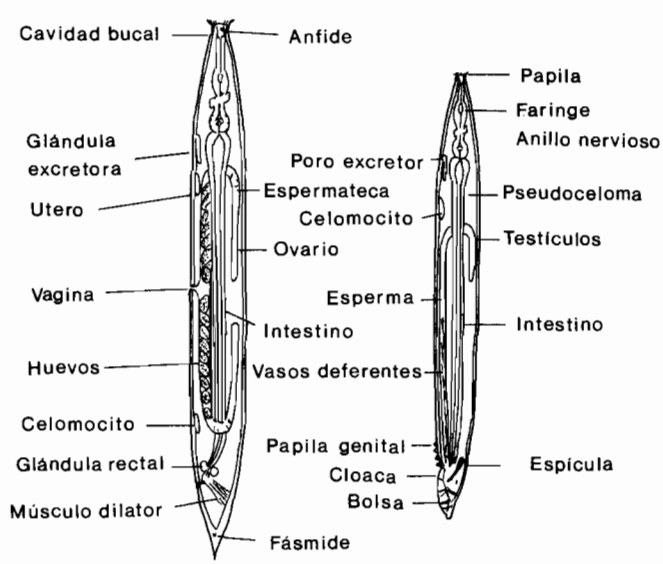


Fig. 80-1. Morfología general de los nematodos.

Tabla 80-1. Principales nematodos de interés clínico

Clase	Orden	Suborden	Superfamilia	Género	Especie	Parasitismo
Aphasmidia (Adenophorea)	*Enoplida*		*Trichuroidea*	*Trichinella*	*T. spiralis*	Intestinal y tisular
				Trichuris	*T. trichiura*	Intestinal
				Capillaria	*C. hepatica*	Tisular
Phasmidia (Secornentea)	*Rhabditida*	*Rhabdiatata*	*Rhabdiasoidea*	*Strongyloides*	*S. stercolaris*	Intestinal
		Strangylata	*Strongyloidea (Ancylostomatoidea)*	*Ancylostoma*	*A. duodenale*	Intestinal
				Necator	*N. americanus*	Intestinal
		Oxyurata	*Oxyuroidea*	*Enterobius*	*E. vermicularis*	Intestinal
			Ascaridoidea	*Ascaris*	*A. lumbricoides*	Intestinal
				Toxocara	*T. canis*	Intestinal y tisular
	Spirurida	*Spirurata*	*Filarioidea*	*Wuchereria*	*W. bancrofti*	Tisular
					W. malayi	Tisular
				Onchocerca	*O. volvulus*	Tisular
				Dipetalonema	*D. perstans*	Tisular
				Mansonella	*M. ozzardi*	Tisular
				Loa	*L. loa*	Tisular
		Camallanata	*Dracunculoidea*	*Dracunculus*	*D. medinensis*	Tisular

de que el parásito o su larva emigren dentro del huésped para cumplir su ciclo.

El cuadro clínico estará, pues, marcado por los trastornos locales (mordedura o irritación de la pared intestinal, acción en vísceras o músculos, etc.) y generales (anemia, toxemia, acción sobre el sistema nervioso, hipersensibilidad).

La inmunidad frente al parásito tendrá gran importancia en la clínica, evolución, diagnóstico y tratamiento de la parasitosis. El sistema inmune responde con anticuerpos e hipersensibilidad celular. Este hecho, más la respuesta inflamatoria inespecífica, da lugar a respuestas tisulares con predominio de células mononucleares, plasmáticas y eosinófilos. Pero la respuesta es muy variable según la localización (mayor en los nematodos tisulares), el tipo y el número de los parásitos. La intensidad de la respuesta marcará el cuadro clínico y su evolución, ya que puede reducir, por ejemplo, la cifra de larvas invasoras, localizarlas e incluso destruirlas. Esta inmunidad también depende de factores naturales que explican la especificidad de huésped, la predisposición de algunas razas, edad, malnutrición, etc.

La aparición de anticuerpos, protectores o no, permitirá su detección con finalidades diagnósticas, al igual que la demostración de una hipersensibilidad retardada.

Clasificación

El *phylum Nematoda* se divide en dos grandes clases, según la presencia o no de unos quimiorreceptores caudales o fásmides: *Phasmidia* y *Aphasmidia*. Ahora bien, desde un punto de vista de la localización del parasitismo y, de ahí, por la clínica, se distinguen clásicamente dos grandes grupos de nematodos: los que viven en el intestino y los que se desarrollan en la sangre u otros tejidos. En la tabla 80-1 se recogen ambos conceptos, taxonómico y clínico.

Nematodos intestinales

Son las más frecuentes helmintiasis de nuestro medio. Transmitidas por vía digestiva dan lugar a un parasitismo intestinal por el gusano adulto, que en la mayoría de los casos cursa sin afectación clínica, lo que explica su gran difusión. Desde un punto de vista clínico podemos dividir los agentes causales en dos grandes grupos: los cuadros conocidos con el nombre de «lombrices» intestinales y las uncinariasis (v. tabla 80-1).

LOMBRICES DEL HOMBRE

Morfología y ciclo

Ascaris lumbricoides

Es la «lombriz de tierra», el mayor de todos los nematodos intestinales (20-35 cm la hembra y 15-30 cm el macho). La anchura es de unos 4 mm. Cilíndrico y de color blanco (fig. 80-2), sus extremos son afilados. La cabeza tiene tres labios redondeados que poseen diminutos dientes o dentículas en sus bordes. En el macho, el extremo posterior está enrollado y posee dos espículas incurvadas. La hembra, que posee la vulva al final del tercio anterior del cuerpo, expulsa unos típicos huevos con doble cubierta: interna o cuticular e hialina, y externa, gruesa, mamelonada y teñida de pardo oscuro por las heces. El tamaño es de 60-75 × 35-50 μm.

Cada hembra sería capaz de poner más de 200.000 huevos, que pasarían con las heces al suelo, donde sufren dos mudas sucesivas en 15-30 días, si las condiciones de humedad y temperatura son apropiadas: primero se segmenta y se forma una larva que al cabo de una semana se transforma en otra infestante, que dentro de las cubiertas del huevo puede resistir hasta 2-3 años.

Los niños o adultos, que juegan con tierra o toman alimentos contaminados a partir de ésta, ingieren dichas larvas que se liberan en el intestino, tras digestión de la

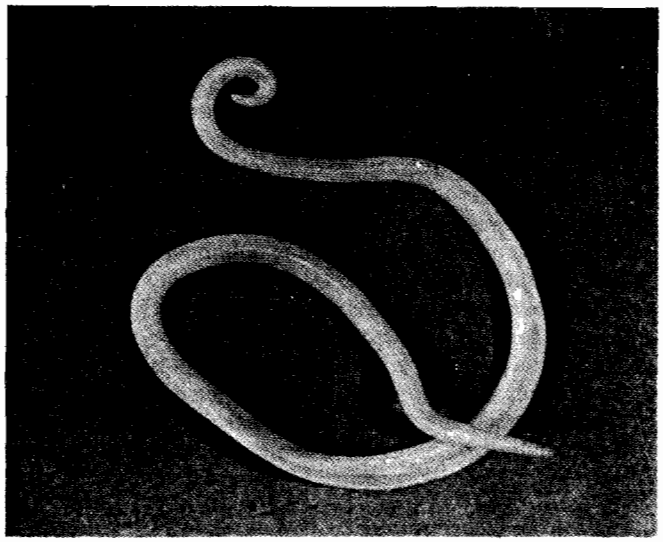


Fig. 80-2. *A. lumbricoides*, adulto hembra.

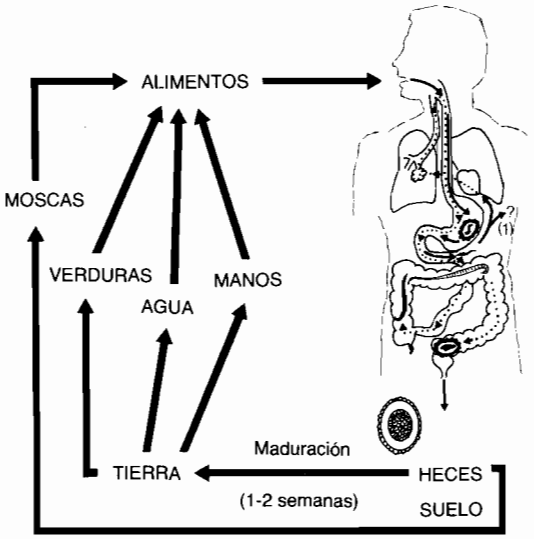


Fig. 80-3. Ciclo evolutivo y transmisión de *A. lumbricoides*. 1, Posible emigración a otros órganos.

cubierta, y penetran a través de su mucosa. Por vía portal, alcanzan el hígado, cava, cavidades cardiacas derechas y pulmón. En éste, la larva sufre dos mudas, penetra en los alveolos pulmonares, rompe los capilares y asciende por los bronquios y la tráquea, hasta ser deglutida. En el intestino sufre una nueva muda y se transforma en gusano adulto (fig. 80-3).

Enterobius vermicularis

También denominado oxiuro o «lombriz de los niños», es el más frecuente de todos los parásitos en nuestro medio, con porcentajes superiores a 95 en muchas escuelas y centros infantiles.

Es un gusano pequeño (8-13 mm la hembra y 2-4 mm el macho; anchura, 0,1 mm), con forma de huso y color blanco (fig. 80-4). El macho posee la extremidad caudal enrollada y con una espícula, y la hembra, una vulva en el tercio anterior del cuerpo, de tal forma que, al acoplarse ambos para la reproducción, lo hacen formando una T. Las hembras grávidas tienen dos úteros distendidos, que prácticamente llenan todo el cuerpo; emigran desde el ciego, en cuya mucosa se fijan los adultos por unos pequeños labios que poseen en la boca, hasta los márgenes del ano, donde depositan los huevos en cantidad de 10.000 ó más, que se adhieren a la piel de esta zona donde se vuelven infectantes al cabo de 6 horas. Esto explica la probabilidad de autoinfestación del sujeto parasitado que sufre un intenso prurito anal, se rasca y conduce estos huevos en las uñas a su propia boca. Los huevos, de 50 a 60 µm, embrionados y asimétricos, con un lado más cóncavo que el otro, también contaminan las ropas, suelo, alimentos, etc., y pueden penetrar en otros sujetos (fig. 80-5).

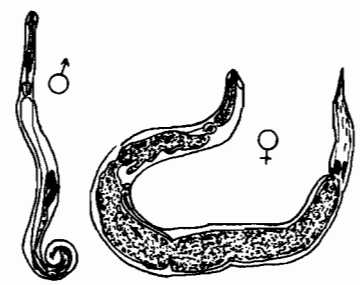


Fig. 80-4. *E. vermicularis.*

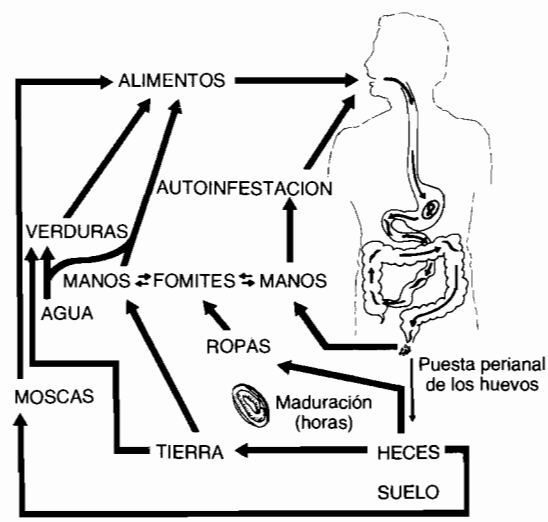


Fig. 80-5. Ciclo evolutivo y transmisión de *E. vermicularis.*

Trichiuris trichiura

Aunque este gusano pertenece a una clase diferente a las anteriores, *Aphasmidia* (tabla 80-1), su ciclo, diagnóstico y tratamiento son comunes con los anteriores, por lo que lo citamos aquí.

También conocido como tricocéfalo, es un gusano pequeño (35-55 mm la hembra y 30-40 mm el macho), con forma de látigo muy característica, ya que sus 3/5 partes anteriores son más gruesas que el resto (fig. 80-6). En éstas se

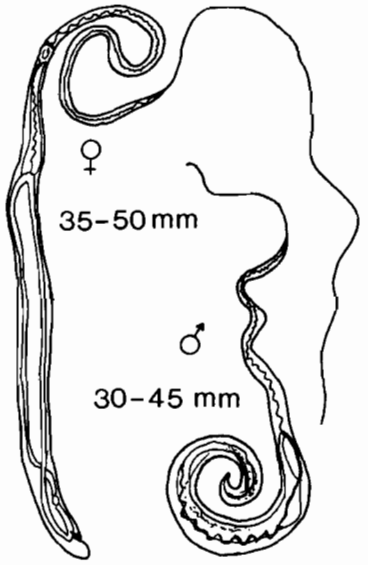


Fig. 80-6. *T. trichiura.*

encuentra el aparato genital. Los adultos permanecen en el intestino delgado y ciego, y hunden su fina extremidad anterior en la mucosa, pero sin provocar reacción inflamatoria ni hemorragia. La hembra deposita en la luz intestinal los huevos de 50 µm y característica forma de limón o barrilete y color amarillo pardusco. En el exterior maduran en 10-12 días, si la humedad y temperatura (25-30 °C) les son apropiadas. Con un ciclo externo similar al de *Ascaris*, liberan tras su ingestión una larva que en la parte alta del duodeno se convierte en adulta, para descender luego a tramos inferiores (fig. 80-7).

Clínica

Gran número de parasitados por estos tres nematodos intestinales no presentan sintomatología o ésta es inespecífica, por lo que se explica que, con tan gran número de portadores sanos, la difusión sea tan marcada.

Existen síntomas comunes de las tres parasitosis, como la anorexia, trastornos gastrointestinales, anemia, diarreas y alteraciones nerviosas irritativas, como convulsiones. Para algunos autores, el retraso en el crecimiento de algunos niños estaría influido por una intensa parasitación.

Otros datos clínicos específicos pueden ser, en las parasitaciones por *Ascaris*, los infiltrados pulmonares de tipo neumónico (respuesta al paso de las larvas por el aparato respiratorio), apendicitis, perforación u obstrucción intestinal por descenso de estos grandes gusanos. A veces pueden aparecer larvas migratorias en localizaciones atípicas.

En la oxiurasis predomina el prurito anal y nocturno, que provoca lesiones de rascado y alérgicas. Los niños duermen mal, rechinan los dientes de noche y pueden presentar enuresis. Pueden aparecer pequeñas melenas y apendicitis.

En las infecciones graves por tricocéfalo hay colitis, con moco y sangre en las heces.

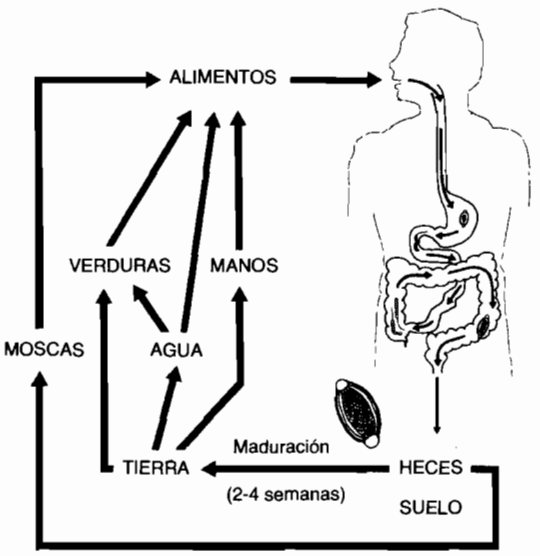


Fig. 80-7. Ciclo evolutivo y transmisión de *T. trichiura.*

Diagnóstico

En las parasitaciones por *Ascaris* y *Trichiuris*, la demostración de los huevos correspondientes en las heces, por simple sedimentación o enriquecimiento por flotación o concentración, permite el diagnóstico correcto. Se establecerá un diagnóstico de la especie del parásito, y comparativo con otros huevos de helmintos y quistes de protozoos.

En el caso de los huevos de *Ascaris* es precisa la diferenciación con las formas descortezadas y no fértiles, que pueden inducir a error.

La presencia del parásito de unos 20 cm en las heces o tras expulsión por vómito es muchas veces el primer signo de infestación.

En la parasitación por *Enterobius* no se buscarán los huevos en las heces, sino en los márgenes del ano, que es donde la hembra va a depositarlos. Para ello se puede utilizar:

1. Un pedazo de celofán (22 × 22 mm), montado en la extremidad de una varilla de cristal y mantenido en posición por una goma elástica. Se frotan los márgenes del ano con el celofán, y en el laboratorio éste se extiende sobre un portaobjetos, con ayuda de una gota de suero salino o sosa decimonormal, para examinarlo al microscopio.
2. Un trozo de cinta adhesiva de celulosa sobre la región anal al acostarse; se deja durante toda la noche y se quita por la mañana.
3. El método más útil es la técnica de Graham, que consiste en el empleo de un depresor de lengua (madera, plástico, etc.), de 7-8 cm de longitud por 1,5 cm de anchura, en uno de cuyos extremos se coloca la cinta de papel adhesivo transparente con la cara engomada hacia fuera, o sea, contraria al depresor (fig. 80-8, 1 y 2). Por la mañana, antes de levantarse el explorado, se separan las nalgas y se hace presión hacia ambos márgenes (fig. 80-8, 3 y 4), para que en la cara engomada queden adheridos los huevos. En el laboratorio, la cinta adhesiva se coloca sobre el portaobjetos con la cara engomada hacia el cristal, y se observa al microscopio a objetivo seco débil.

La eosinofilia de estas parasitosis suele no ser muy manifiesta, aunque puede ser de valor orientativo.

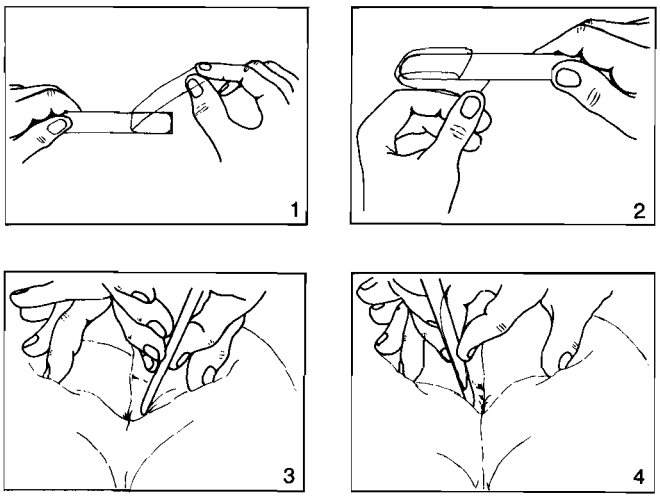


Fig. 80-8. Técnica de Graham (v. explicación en el texto).

Tratamiento

La terapéutica antihelmíntica es muy extensa, por lo que sólo señalamos los tratamientos más modernos y eficaces.

Como medicamentos polivalentes (útiles para los tres tipos de gusanos) y más usados hoy día, se encuentran:

1. El *tiabendazol*, a dosis de 12,5 mg/kg de peso, dos veces al día (después del desayuno y cena), durante 5 días seguidos; puede administrarse en forma de jarabe o comprimidos. En los niños se administra la mitad de la dosis.
2. El *pamoato de pirantel*, a dosis única, una tableta masticable de 250 mg en niños de 6 meses a 2 años de edad, dos tabletas en los de 6 a 12 años y tres tabletas en niños mayores de 12 años y adultos.
3. El *mebendazol*, a dosis única, para todo peso y edad, de un comprimido ó 5 ml de suspensión (100 mg ambos) en oxiurasis; en parasitación por *Ascaris* y *Trichuris*, dos comprimidos, 3 días consecutivos, sean cuales fueren la edad y peso del paciente, ya que es nula su absorción por la mucosa intestinal.

Otros fármacos utilizados frente a *Ascaris* han sido diversas sales de piperazina a dosis de 100 mg/kg de peso y día, durante 3 días consecutivos. Frente a *Enterobius*, se administra el *pamoato de pirvinio*, a dosis de 50 mg/kg de peso en una sola dosis, haciendo constar que tiñe las heces de un color rojo brillante. En tricocéfalo se usa el *yoduro de ditiazina*, a dosis de 10 mg/kg durante 3 días.

En todas estas parasitaciones se tomarán las medidas higiénico-sanitarias para evitar el ciclo vital del gusano: limpieza de manos y uñas, aseo de habitaciones, cambio frecuente de ropa interior, etc. Es muy recomendable el tratamiento de todos los miembros de la familia, estén o no parasitados. Así mismo, para luchar contra la posible reinfección, dada la inocuidad de la terapia, se recomienda la repetición de una cura a los 8 días de la primera.

Profilaxis

Las medidas de lucha son de tipo ambiental e individual. Entre las primeras se encuentran la construcción de letrinas, no usar aguas contaminadas para el riego, cocer las verduras antes de su ingestión y la protección de los alimentos frente a las moscas. En cuanto a la higiene individual, las manos limpias, uñas cortadas, el no jugar con tierra, etc., son medidas que hay que inculcar en los niños, si bien su práctica no es sencilla. La educación sanitaria en este sentido es de gran interés.

UNCINARIASIS

Se denominan así las parasitosis producidas por las especies *Ancylostoma duodenale* (en Europa, Africa, cuenca mediterránea y Asia Menor), *Necator americanus* (del latín *necare*, matar) (centro y sur de Africa, Sudamérica y sur de Asia) y algunas otras de *Ancylostoma* (del griego *anchylos*, gancho, y *stoma*, boca). También se ha denominado clorosis de Egipto, anemia de los mineros, anemia tropical y «hookworm disease» (enfermedad del gusano de los ganchos), ya que la principal sintomatología comprende la anemia crónica y la debilidad, agravadas por la desnutrición y otros parasitismos de las zonas endémicas. Se ha afirmado que afecta a cerca de 700 millones de individuos.

Morfología y ciclo

Son gusanos cilíndricos, y *Ancylostoma* (8-11 mm el macho y 10-13 mm la hembra, por 0,3-0,4 mm) es mayor que *Necator* (7-9 mm el macho y 9-12 mm la hembra). Poseen una gruesa cutícula blanquecina y un tubo digestivo que se inicia en una cápsula bucal provista de dientes cortantes en *Ancylostoma* o láminas semicirculares en *Necator* (fig. 80-9).

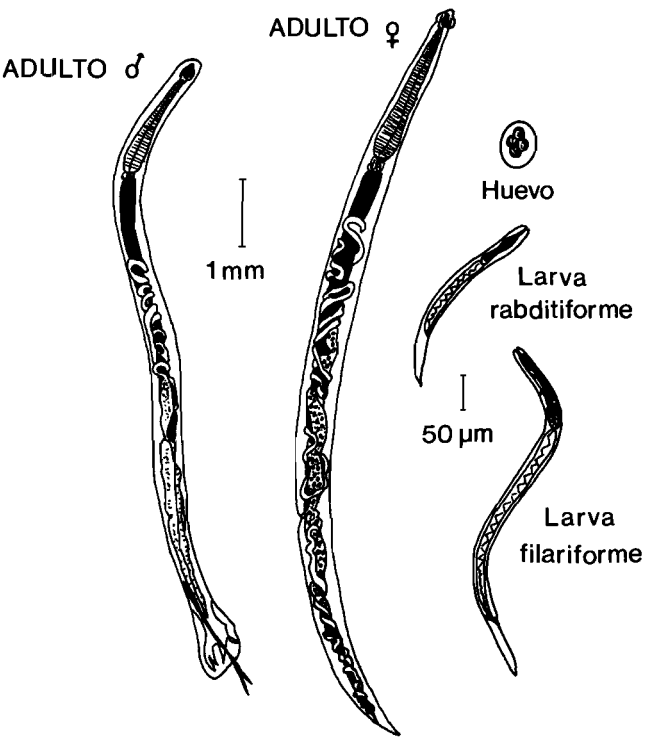


Fig. 80-9. *A. duodenale.*

Tabla 80-2. Algunas características diagnósticas y diferenciales de Ancylostoma y Necator

	Ancylostoma duodenale	*Necator americanus*
Tamaño (macho; hembra)	8-11 mm; 10-13 mm	7-9 mm; 9-12 mm
Cápsula bucal	Dos pares de dientes ventrales con dientecillo accesorio en los internos	Dos placas ventrales
Bolsa copuladora del macho	Rayo dorsal no muy hendido y extremo de cada rama tridigitado	Rayo dorsal muy hendido y extremo de cada rama bidigitado
Espículas del macho	Las puntas no se unen	Puntas unidas
Extremo caudal de la hembra	Conoide alargado (mucro)	Mucro ausente
Vulva	Al comienzo del tercio distal	Parte media del cuerpo
Huevo	Con 2 a 16 blastómeros y envoltura hialina. Extremidades redondeadas	Con 2 a 16 blastómeros y envoltura translúcida
Larva filariforme infectante	Con vaina lisa y espolones prominentes	Con vaina muy estriada y espolones esofágicos no prominentes

El macho presenta en el extremo posterior una dilatación en forma de campana, conocida como bolsa copuladora, que es ancha y translúcida, y presenta espículas para fijarse en el momento de la copulación; la situación de la vulva varía en las hembras según las especies, lo que permite el reconocimiento durante dicha cópula, al formar una V en la variedad europea y una T en *Necator* (tabla 80-2).

Los gusanos adultos viven en la parte alta del intestino delgado, se fijan en la mucosa intestinal mediante la cápsula bucal (dientes o placas), succionan la sangre de aquélla y, al desprenderse para fijarse en otro lugar, dejan pequeñas ulceraciones que continúan sangrando. Un *Necator* necesita 0,1 ml de sangre por día; para un *Ancylostoma*, la necesidad es de 2,5 ml de sangre diaria. La hembra fértil (que puede poner entre 10.000 y 20.000 huevos al día) libera huevos de manera continua; éstos son de 65-75 µm de longitud por 35-40 µm de anchura y poseen una membrana externa translúcida; aunque al principio no están segmentados, pronto aparecen 2, 4 u 8 blastómeros característicos en su interior (fig. 80-10). Los huevos salen con las heces al exterior y se desarrollan lentamente en condiciones ambientales favorables; entre ellas destacan la existencia de humedad y una temperatura entre 10 y 45 °C, óptima de 25-35 °C. El terreno arenoso o fangoso es bueno, pero no el arcilloso. También influyen el oxígeno y el cloruro sódico del terreno.

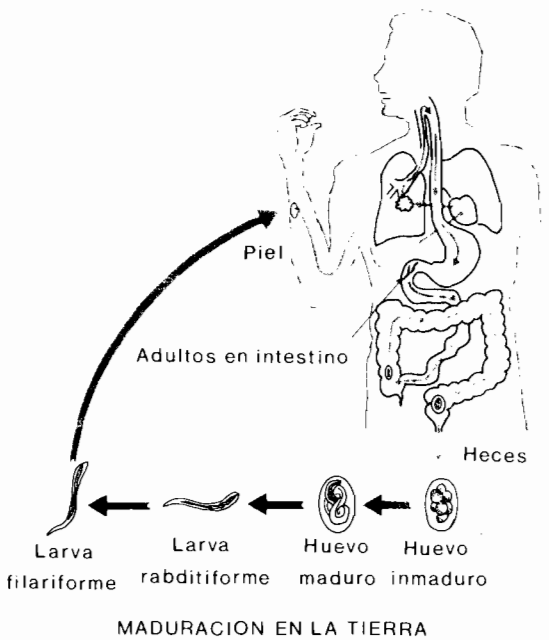


Fig. 80-10. Ciclo vital y transmisión de *Ancylostoma*.

Al cabo de 24-48 horas se libera una primera larva «rabditiforme» de 276 × 16 µm (esófago en forma de reloj de arena), que se alimenta de bacterias, se hunde en el suelo, adquiere un tamaño de 450 µm, rompe sus cubiertas y sale una segunda larva de iguales hábitos que la anterior y de ella, una tercera, que conserva sus cubiertas para protegerse del ambiente, pero, en cambio, no puede alimentarse y ha de vivir de las reservas almacenadas en sus células intestinales. Las dos primeras larvas no son parásitas, pero la tercera tiene como misión infectar un nuevo huésped por vía digestiva o penetrando a través de la piel; se denomina larva «estrongiloide» (filariforme) o infectante, y su esófago es osiforme. Esta mide unos 0,5 mm de longitud y sucumbe fácilmente por la desecación; por esto sólo sobrevive en los sitios húmedos, tales como las galerías de las minas y las tierras de regadíos, así como las huertas abonadas con excretas humanas. Cuando el huésped humano se pone en contacto con la larva infectante, ésta perfora la piel situada entre los dedos de los pies, la del tobillo, la de las manos o la de las muñecas. La penetración de las larvas de *A. duodenale* apenas provoca una reacción cutánea, mientras que la de las de *N. americanus* produce a menudo una verdadera inflamación y un intenso prurito. Las larvas se abren camino hasta los capilares venosos de la piel y son arrastradas hasta el corazón; desde aquí pasan a los pulmones, donde salen de los vasos y pasan a los alveolos pulmonares, bronquios y tráquea, mientras se transforman en cuarta larva; ésta pasa por la faringe y esófago al estómago e intestino delgado, donde se transforma en gusano adulto, en 3 ó 4 semanas (ciclo de Looss). Los adultos pueden vivir hasta 10 años en el intestino humano.

Clínica

Varía según la etapa de la migración del parásito:

1. En el período de invasión, las larvas pueden producir una dermatitis («comezón del rocío») en el lugar de penetración, con erupción pápulo-vesiculosa. A su paso por los alveolos pulmonares, las lesiones pueden ir desde infiltrados fugaces a neumonitis.

2. En el período intestinal, la patología depende del grado de parasitación. Se afirma que una parasitación con menos de 100 gusanos es asintomática, en una comprendida entre 100 y 500 gusanos las lesiones son moderadas y las infecciones con más de 500 anquilostomas son graves. La anemia es el síntoma principal, producida por la lesión local de la cápsula bucal del gusano, que, además, secreta anticoagulantes, y es hipocrómica y microcítica. Por esto, aparecen la palidez, fatiga y cansancio («germen de la flojera»). Todo esto depende en intensidad del número de gusanos, estado físico previo, alimentación, existencia de otras parasitosis o enfermedades (paludismo, tuberculosis), etc. A medida que avanza la enfermedad, aparecen lesiones secundarias en miocardio, hígado, etc., con ascitis, depresión física y psíquica, caquexia y muerte. La infección es más grave en la mujer embarazada y niños menores de 5 años.

Diagnóstico

El diagnóstico cierto de la enfermedad se fundamenta en la demostración, en las heces de los sujetos, de los huevos del parásito, pero ni aun en caso positivo podemos estar ciertos de que el cuadro clínico patológico sea específicamente anquilostomiásico. La positividad cualitativa sólo sirve para indicar que el sujeto es portador; hace falta recurrir a una técnica cuantitativa de recuento de los huevos en heces para que tengamos idea del grado de parasitismo, que, si es elevado, afianza el diagnóstico.

En un adulto, el hallazgo de un solo huevo en una preparación ordinaria (unos 2 mg de heces) indicaría la existencia de unos 5 adultos de *Necator* ó 2-3 de anquilostomas; el recuento de 20 huevos en una preparación señala la existencia de unos 100 adultos de *Necator* ó 50 de anquilostomas, es decir, 5.000 huevos por gramo de heces representan el valor crítico para indicar una infestación.

Mediante las técnicas específicas de recuento, se considera que la eliminación por día y gramo en heces de menos de 2.500 huevos es una infestación leve o indica un estado de portador, de 2.500 a 12.500 es una infestación moderada y por encima de esta cantidad sería intensa.

Las formas adultas del gusano se diferencian fácilmente de otros vermes y entre sí (tabla 80-2). La diferenciación entre las larvas de *Ancylostoma* y *Strongyloides stercolaris* es más compleja y debe hacerse en la segunda larva por la cápsula bucal y el primordio genital, y en la tercera por la presencia de vaina y cola puntiaguda del *Ancylostoma*.

Para estudiar el desarrollo y llegar a un diagnóstico exacto de la especie, puede recurrirse al cultivo de las heces, para el cual las técnicas adecuadas pueden ser un tubo sobre papel de Watman o cultivo sobre carbón.

La demostración de anticuerpos por fijación del complemento, hemaglutinación y precipitación específica en los alrededores de la boca y ano de anquilostomas mantenidos en el laboratorio no son pruebas muy usadas. Se han descrito anticuerpos frente a proteasas y acetilcolinesterasas específicas secretadas por el parásito.

La eosinofilia es frecuente, aunque no muy marcada.

Tratamiento

El antiparasitario más recomendable es el mebendazol, dos comprimidos de 100 mg (igual a 5 ml de suspensión) diarios, durante 3 días consecutivos, sean cuales fueren la edad y peso del paciente. También es útil el pamoato de pirantel: una tableta de 250 mg en niños pequeños, dos tabletas de los 6 a 12 años y tres tabletas en niños mayores y adultos; dosis única.

Se añadirá un tratamiento antianémico en las parasitaciones intensas.

Profilaxis

Consiste en medidas ambientales (letrinas, alcantarillado) e individuales (uso de calzado y guantes, tratamientos en masa, educación sanitaria que evite la defecación en el suelo, etc.). Se encuentran en experimentación vacunas con larvas infectantes irradiadas.

STRONGYLOIDES STERCOLARIS

Es el causante de una parasitación de las zonas tropicales, denominada anguillulosis o diarrea de la Conchinchina.

Morfología y ciclo

Es un nematodo pequeño, de 0,7 mm el macho y 2 mm la hembra, que vive en la mucosa del intestino delgado, con un esófago rabditoide el primero y recto la segunda. En el espesor de la mucosa duodenal, la hembra coloca huevos de 50 × 30 µm parecidos a los de uncinarias, de los que emergen larvas rabditoides de 200 µm con esófago en maza y que son las halladas en las heces del huésped. La larva rabditoide puede seguir tres modalidades de ciclo:

Ciclo directo. Es igual al de *Ancylostoma*. Las larvas se transforman en filariformes, infestantes, de hasta 700 µm de longitud, que penetran por la piel de un nuevo huésped y pasan a la circulación venosa, corazón, pulmón, esófago e intestino, donde se desarrollan a gusanos adultos y se completa el ciclo.

Ciclo indirecto. En éste, la larva rabditoide se desarrolla en el suelo hasta llegar a hembra o macho, sexualmente adulto. La hembra de 1 mm es fecundada y da origen a huevos, de los que emergen larvas rabditoides y de éstas, filariformes que son las infectantes para el hombre. Este ciclo es más frecuente en zonas tropicales favorables, mientras que el directo lo es en zonas más frías.

Autoinfestación. En ella, las larvas rabditoides no salen al exterior y en el colon se transforman en filariformes que penetran por la mucosa intestinal o la piel perianal, alcanzan la circulación y realizan el ciclo de desarrollo.

Este mecanismo explicaría la parasitación persistente durante muchos años después de haber vivido en zonas endémicas.

Clínica

La mayoría de las veces, la parasitación es asintomática. En otros casos puede haber signos en la puerta de entrada

de las larvas (erupción pruriginosa), infiltrados fugaces debidos al paso por el pulmón, o síntomas gastrointestinales (dolor epigástrico o cólico, náuseas, vómitos, diarrea). En casos graves hay disentería, anemia y pérdida de peso.

Diagnóstico

Se realiza por el hallazgo de larvas rabditoides en las heces, por el método directo o concentración. Se planteará la diferenciación con las larvas de uncinarias. La eosinofilia no es infrecuente.

Tratamiento

El mebendazol y el tiabendazol, a las dosis ya indicadas, son los fármacos de elección. El pamoato de pirvinio también es útil.

LARVAS MIGRATORIAS

Son numerosas las especies parásitas del hombre y animales, que antes de alcanzar su localización definitiva para hacerse adultas recorren un camino más o menos largo por los órganos y tejidos del hospedador. Es el caso bien conocido de *Ascaris lumbricoides* o de *Ancylostoma* en el hombre. Pero otras veces sucede que parásitos no específicamente humanos pueden realizar «migraciones» en el hombre, aunque nunca alcancen en él su forma adulta.

Todos estos cuadros se conocen como *Larva migrans*, y atendiendo siempre a su localización y también a su evolución clínica se aceptan dos formas distintas: *Larva migrans* cutánea y visceral.

Larva migratoria cutánea

La antiguamente llamada erupción rampante es una parasitosis cutánea, que se adquiere por la exposición de la piel a larvas filariformes de anquilostómidos y otros estrongiloideos, parásitos específicos de perros y gatos. Se citan como causantes las siguientes especies; *Ancylostoma caninum*, *A. braziliense*, *A. stenocephala* y *Gnatostoma spinigerum* (parásitos de perros, gatos y otros carnívoros), *Bunostomum phlebotomun* (parásito de bóvidos) y *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* y *Strongyloides stercolaris*, parásitos propios del hombre, en el que por causas no conocidas la tercera larva, filariforme, es incapaz de penetrar en la profundidad del tejido cutáneo y emigra al estrato germinativo del epitelio dérmico.

Las más frecuentes de las larvas migratorias cutáneas son *A. caninum* y *A. braziliense*, parásitos de perros y gatos. Los huevos son expulsados al exterior con las heces de estos animales y en el suelo evolucionan a larva rabditiforme y filariforme, que posee un termotropismo positivo, el cual le atrae hacia la piel, que perfora hasta la capa germinativa.

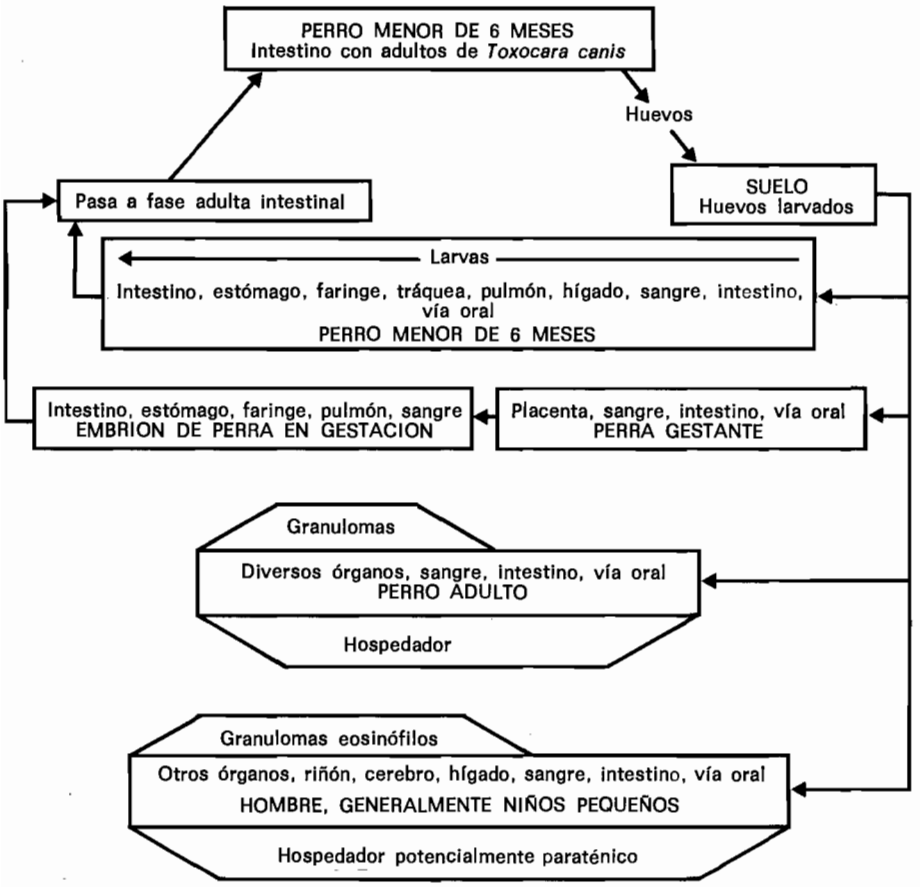


Fig. 80-11. Ciclo biológico de *T. canis*, con sus diversas variantes. (Tomado de Guevara Pozo.)

A partir del punto de entrada se originan túneles irregulares y sinuosos, que pueden avanzar de 2-5 cm/día y en cuyo extremo más reciente se encuentra la larva.

La clínica demuestra un cordón saliente, irregular, rojo y enormemente pruriginoso, especialmente por la noche, que se localiza en los pies, piernas, manos y brazos. No es rara la infección bacteriana sobreañadida. Los niños se contaminan con gran facilidad en las arenas de la playa, parques infantiles o montones de tierra, donde tienen acceso los perros y gatos.

El tratamiento es local (enfriamiento con cloruro de etilo, donde se encuentra la larva) y general, con tiabendazol, a dosis usuales.

Larva migratoria visceral

De los diversos nematodos implicados como agentes causales de este proceso, *Toxocara canis* es sin duda el principal responsable. De menor trascendencia son *T. cati*, *Ascaris*, *Strongyloides*, etc. El ciclo biológico se resume en la figura 80-11, en la que destaca cómo, cuando la parasitación es en perros adultos y hombres, da un cuadro de granuloma, ya que éstos no son huéspedes definitivos, sino de «espera» o paraténicos. Las posibilidades de infestación a partir de un perro parasitado son enormes, pues una hembra de *T. canis* puede depositar hasta 2 millones de huevos diarios y en un solo perro puede haber hasta centenares de hembras.

Las larvas (0,4 × 0,02 mm), después de atravesar la pared intestinal, son transportadas a cualquier punto: hígado, pulmón, ojos, músculos, cerebro, etc., donde ocasionan el granuloma alérgico, formado por la larva, con células histiocitarias y eosinófilos, células epitelioides y gigantes, etc. La sintomatología es de lo más variado, según el número de larvas, su localización y respuesta inmune del sujeto. Destacan la hepatopatía y las lesiones oculares, siempre del polo posterior. Los cuadros pulmonares y encefálicos son más graves. La leucocitosis, marcada eosinofilia e hipergammaglobulinemia son la norma.

El diagnóstico se realiza bien por las larvas, en granulomas de la retina o punción hepática, bien por demostración de anticuerpos específicos mediante reacciones de hemaglutinación indirecta, inmunodifusión e inmunoelectroforesis, realizadas con antígenos de extractos de *T. canis*, adultos o larvas.

El tratamiento se realiza con tiabendazol o mebendazol. Las medidas profilácticas principales son el tratamiento antihelmíntico de los perros y el evitar que los animales accedan a los lugares de tierra para juegos infantiles.

BIBLIOGRAFIA

Anya, A. O.: Physiological Aspects of Reproduction in Nematodes. En Dawes, B. (dir.): Advances in Parasitology, vol. 14. Academic Press, London, 1976.

Brown, H. W. y Neva, F. A.: Basic Clinical Parasitology. 5.º ed. Appleton Century Crofts. Norwalk, 1983.

Guevara Pozo, D.: Larva Migrans. Discurso de Apertura de la R. Academia de Medicina, Granada, 1977.

Kaul, T. N., y Mahajan, R. C.: Immunofluorescence in serodiagnosis of hookworm disease. Indian J. Med. Res., 66, 413-416, 1977.

Levine, E.: Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man. Burgess, Minneapolis, 1968.

Piédrola, G.; Bravo, J., y Amaro, J.: Helmintiasis transmisibles por vía oral de localización intestinal. En Piédrola, G., y cols. (dirs.): Medicina preventiva y social. Amaro, Madrid, 1980.

Stromberg, B. E., y Soulsby, E. J. L.: Heterologous helminth induced resistance to *Ascaris suum* in guinea pigs. Vet. Parasitol., 3, 169-175, 1977.

Vetter, J. C. M.; Klaver-Wesseleig, J. C. M., y Visser, W. K.: Antibody bending to the hookworm *Ancylostoma caninum*. Parasitology, 77, 27-28, 1978.

Capítulo 81

Nematodos tisulares

Gonzalo Piédrola-Angulo

TRICHINELLA SPIRALIS

Morfología

La triquinosis es una enfermedad cosmopolita, producida por el enquistamiento muscular de las larvas de *Trichinella spiralis* en los sujetos afectos.

El gusano adulto de *T. spiralis* (*thrix* = hilo) es un nematodo pequeño, de 1,5 × 0,04 mm el macho y 3,5 × 0,06 mm la hembra. Se caracteriza por presentar una extremidad anterior delgada, con una pequeña boca orbicular sin papilas, que se continúa con un esófago largo y termina en una cloaca. El extremo posterior es romo y redondeado en la hembra, y con curvatura ventral y dos apéndices caudales lobulares en el macho. La hembra posee un solo ovario que comunica con el útero y la vagina, y desemboca en la vulva situada en la quinta parte anterior de la hembra (fig. 81-1).

Los huevos son esferoidales, de 40 µm de diámetro, pero la hembra es vivípara, es decir, deposita larvas vivas en el intestino. Estas larvas, de 80-120 × 5-6 µm, poseen una punta lanceolar en su extremidad anterior y crecen poco a poco hasta alcanzar un tamaño de 900-1.300 × 35-40 µm en las fibras musculares; una hembra puede evacuar de 6.000 a 10.000 larvas.

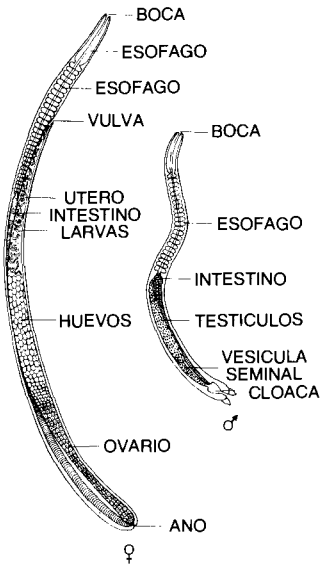


Fig. 81-1. Esquema de la morfología de *T. spiralis*.

Las triquinas adultas viven en el intestino delgado (yeyuno), en tanto que las larvas se localizan en los músculos estriados del mismo huésped (hombre o animal).

Ciclo

Cuando el hombre ingiere carne cruda o poco cocida infestada con quistes de *Trichinella*, las larvas quedan libres al ser digeridas las cubiertas en el estómago, pasan a la mucosa duodenal y yeyunal y aquí a las 36-48 horas se convierten en gusanos adultos, machos y hembras, que se alojan en las paredes de la mucosa, y en la luz intestinal es donde tiene lugar la cópula. Las hembras fecundadas se hunden en las criptas glandulares y pared intestinal, placas de Peyer e incluso ganglios mesentéricos (de 4 a 5 días después de la infestación). Durante este período depositan miles de larvas, algunas de las cuales pueden entrar en la luz intestinal, si bien la mayoría llegan a los linfáticos intestinales o a las vénulas mesentéricas, son vehiculadas a las cavidades derechas cardiacas y a los pulmones, y pasan a la circulación arterial, en donde se las encuentra entre el noveno y vigésimo tercer día, que es el período de enquistamiento muscular. Los músculos más parasitados son los respiratorios (diafragma, intercostales), laringe, lengua, bíceps, psoas, pectorales, gemelos, deltoides, oculomotores, etc.

Las larvas en el músculo se rodean de una cápsula, vaina elipsoidal adventicia, cuyo eje longitudinal es paralelo al de las fibras musculares y resultado de la infiltración de células redondas y eosinófilas alrededor de la larva estrechamente enrollada.

La larva crece dentro de la cápsula hasta alcanzar 1 mm de longitud, lo que origina degeneración o tumefacción de las fibras musculares adyacentes, engrosamiento y alteraciones del sarcolema, y fragmentación de las fibras seguidas de la formación de una cápsula fibrosa externa, que contiene gran número de capilares sanguíneos; toda la pared del quiste se origina de la reacción histológica del huésped, sin intervención activa de la larva.

La pared del quiste es lo suficientemente permeable para permitir el paso de aminoácidos hacia el interior, que serán

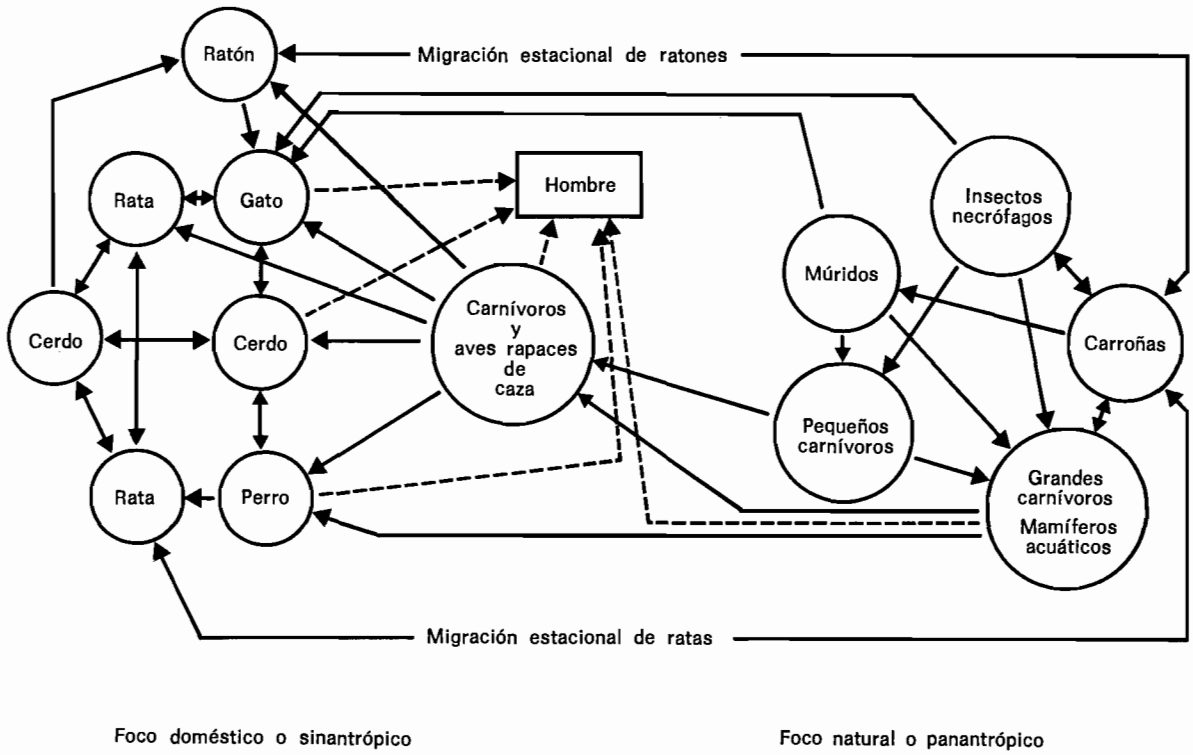


Fig. 81-2. Ciclo de la triquinosis, según Berezanchev.

convertidos en proteínas larvarias. En el hombre, las larvas enquistadas pueden permanecer viables durante muchos años, aunque en general se calcifican entre los 6 y 9 meses.

La presencia de gusanos adultos en el intestino desencadena una respuesta inmunitaria con la producción de anticuerpos, que no impiden el desarrollo de nuevos adultos y la puesta de larvas, en caso de reinfestación.

El hombre contrae la enfermedad comiendo carne (jamón, salchichas, chorizos, etc.) de cerdo o jabalí infestados y mal calentada, y más rara vez de otros animales. Existe un foco doméstico y otro natural o salvaje (fig. 81-2). En resumen, se trata de un ciclo auto-heteroxeno, en el que intervienen dos huéspedes asegurando el transporte del parásito de uno a otro, pero se trata de un dixenismo muy particular, pues el mismo huésped es a la vez definitivo (alberga el gusano adulto) e intermediario (permite el desarrollo de la larva infestante).

Clínica

Tras un período de incubación de 2 a 10 días, según la cantidad de triquinas ingeridas, se distinguen tres períodos definidos: intestinal, de migración y muscular.

La primera fase corresponde a la emigración de las hembras fecundadas en la pared intestinal y a la puesta de larvas. Por esto, aparecen síntomas poco específicos de «catarro intestinal», náuseas, vómitos, diarrea, dolorimiento abdominal y un síntoma clave que es la fiebre, pues es la única helmintiasis que va acompañada de una fiebre elevada, de 40-41 °C y en forma de meseta durante varias semanas. Esta gastroenteritis febril se confunde con procesos diarreicos por *Salmonella*.

Poco a poco se instaura el período de estado, que corresponde a la diseminación o migración de las larvas. En la segunda a cuarta semana aparecen, junto a la fiebre, postración, cefaleas, edemas y fenómenos alérgicos. Los edemas, localizados sobre todo en la cara (párpados y cuello), pero también en el tronco, escroto y extremidades, se deben a la obstrucción capilar por larvas de triquinas. Las erupciones urticariales, mialgias difusas, astralgias, etc. se deben a lo mismo. No son raros cierto meningismo y complicaciones bronco-pulmonares, miocárdicas y neuropsíquicas, que pueden acabar en la muerte del sujeto.

En el período muscular, a partir de la tercera semana de la ingestión del alimento infestado, predominan fuertes mialgias, trismo, disnea, disfagia, etc.

Existen cuadros clínicos que pasan inadvertidos y sólo se diagnostican por hallazgo autópsico.

Diagnóstico

La aparición de un cuadro clínico en varias personas afines, que han ingerido 24 ó 48 horas antes carne de un mismo cerdo o jabalí, que no se ha sometido a control veterinario y en la que se demuestran larvas de triquina, constituye una base de sospecha muy importante para el diagnóstico.

En el estudio hematológico destaca una leucocitosis con eosinofilia (30-60 %). Es norma el aumento de la creatinfosfoquinasa y lactodeshidrogenasa. En el primer estadio es muy raro descubrir los parásitos adultos en las heces. En la fase de diseminación pueden encontrarse larvas circulantes en la sangre (del 5.º al 25.º día), y se trata ésta con ácido acético para posterior visualización por tinción de Giemsa (método de Staubli).

Entre los métodos inmunológicos destaca la demostración de anticuerpos mediante test de látex o bentonita, inmunofluorescencia indirecta e inmunoelectroforesis, en la que aparecen dos arcos de precipitación específicos. La demostración de IgM, IgG e IgE por radioinmunoensayo tiene más valor experimental que práctico. El test de microprecipitación de Roth, con suero de posibles enfermos y triquinas vivas, es muy específico, y aparecen precipitados alrededor del extremo oral del parásito, tras incubación a 37 °C, durante 10 a 20 horas. La intradermorreacción es tardía.

En el tercer estadio, la biopsia de la porción distal del deltoides da excelentes resultados, si bien un resultado negativo no excluye la enfermedad. Los quistes calcificados pueden observarse en radiografía.

Tratamiento

El tiabendazol es el medicamento de elección, en dosis de 25-50 mg/kg dos veces al día; la dosis máxima diaria es de 3 g y la total máxima, de 30 g. El tratamiento con corticoides disminuye los fenómenos inflamatorios y alérgicos acompañantes.

Profilaxis

Además de abstenerse de ingerir carne no controlada por los técnicos veterinarios, la medida fundamental se realiza sobre el ganado suino, y destacan el control triquinoscópico de todas las carnes en los mataderos, la prohibición de alimentar a los cerdos con restos de otros animales, la desratización y la destrucción preventiva de las larvas en las carnes, por el calor (80 °C en su interior), el frío (–30 °C, durante 3 días) o las radiaciones ionizantes.

CAPILLARIA HEPATICA

Es un parásito cosmopolita que afecta comúnmente a la rata, otros roedores, gran número de mamíferos y rara vez al hombre. El gusano adulto mide 20 × 0,1 mm y recuerda un pelo (*capillus*). La hembra adulta deposita los huevos en el hígado, que son parecidos a los de *Trichuris*, en forma de limón, pero con la cubierta externa con depresiones, como una pelota de golf.

La enfermedad (hepatitis subaguda, sólo diagnosticable por biopsia hepática) se adquiere al ingerir hígado crudo de animales infestados.

FILARIAS QUE PARASITAN AL HOMBRE

Caracteres generales

Las filarias son unos nematodos filiformes y blancos, de 2 a 50 cm, con una boca simple y esófago cilíndrico con dos porciones, muscular anterior y glandular posterior. La hembra, de doble tamaño que el macho, es vivípara y pone microfilarias, cuya morfología y localización en el huésped son útiles para identificar la especie de parásito; la presencia o no de una delicada membrana que sobresale más allá

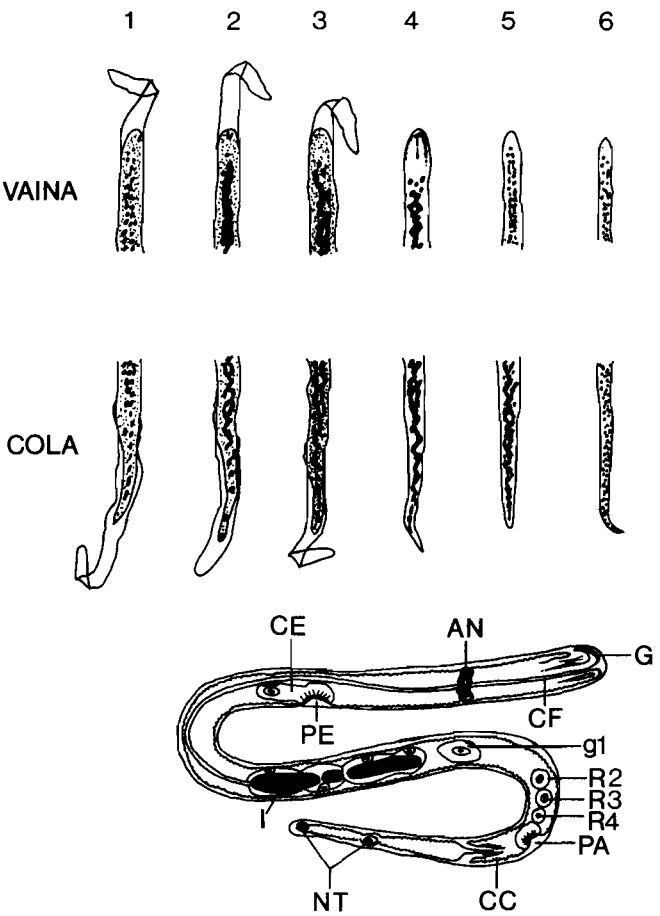


Fig. 81-3. Las microfilarias. 1) *W. bancrofti*. 2) *W. malayi*. 3) *L. loa*. 4) *O. volvulus*. 5) *D. perstans*. 6) *M. ozzardi*. Esquema de una microfilaria. G, gancho; CF, conducto faríngeo; AN, anillo nervioso; CE, célula excretora; PE, poro excretor; I, cuerpo interno; g1, célula intestinal embrionaria; R2, R3 y R4, células rectales embrionarias; PA, poro anal; CC, canal caudal; NT, núcleos terminales.

de las extremidades de la microfilaria (vaina) y la existencia o no de columnas de células, cuyos núcleos se tiñen intensamente, en la punta de la cola de aquélla permiten dichas diferenciaciones (fig. 81-3).

Las microfilarias aparecen en la sangre y tejidos, unos meses después de la infección, y también resulta característica la periodicidad de su paso a la sangre periférica. Así *W. bancrofti* posee una típica periodicidad nocturna: las microfilarias se concentran en los vasos pulmonares durante el día y se liberan a la circulación periférica durante la noche. *Loa loa* es, por el contrario, de periodicidad diurna.

El ciclo vital de las filarias se continúa al ser ingeridas estas microfilarias por un insecto hematófago, en el que atraviesan la pared del estómago y entran en la musculatura torácica, donde se transforman en larvas rabditoides y una larva filariforme infectante (1-3 semanas), que va a ser vehiculada por picadura de la probóscide a un nuevo sujeto, donde madura a gusano adulto.

A continuación se citan las características principales del ciclo vital, que condicionan la clínica de cada una de las principales filarias que parasitan al hombre (tabla 81-1), y luego veremos el diagnóstico y tratamiento, que son comunes.

Tabla 81-1. Principales características de las filarias que parasitan al hombre

					Microfilaria			
							Tamaño en micras	
	Enfermedad	Localización	Periodicidad	Artrópodo transmisor	Vaina	Núcleos terminales	Longitud	Anchura
Wuchereria bancrofti	Filariasis de Bancrofti	Linfáticos	Nocturna	*Culex fatigans*	Sí	No	200-300	8
Wuchereria malayi	Filariasis malaya	Linfáticos	Nocturna	*Mansonia*	Sí	Dos	220-250	6
Onchocerca volvulus	Oncocercosis	Nódulos y conjuntiva	Diurna	*Simulium*	No	No	250-300	8
Dipetalonema perstans	Dipetalonemiasis	Cavidades	No	*Culicoides*	No	Sí	150-200	4
Mansonella ozzardi	Filariasis de Ozzard	Cavidades	No	*Culicoides*	No	No	150-200	4
Loa loa	Loasis	Tejido subcutáneo del ojo	Diurna	*Chrysops*	Sí	Sí	250-300	8

Ciclo epidemiológico

Wuchereria bancrofti

Los gusanos adultos (8-10 cm la hembra y 4 cm el macho) tienen como único huésped definitivo al hombre y se localizan en los linfáticos, vasos y ganglios. Poseen ganchos y espinas en el espacio cefálico y un típico surco faríngeo. Las microfilarias emigran a la sangre o linfa, y circulan por éstas hasta que un mosquito transmisor que pique al sujeto las ingiera. El principal transmisor es *Culex fatigans*, pero también pueden serlo otros *Culex*, *Anopheles*, *Aedes* y *Mansonia*. En el *Culex*, mosquito nocturno, urbano y doméstico, las microfilarias emigran a los músculos y tras 6-20 días se abren paso hacia la proboscis y, en una nueva ingestión de sangre, las larvas desarrolladas entran por la piel de otro sujeto.

Los síntomas de esta filariasis son causados por los gusanos adultos, que tienen preferencia por los vasos linfáticos de las extremidades inferiores y los que drenan los genitales de ambos sexos. Junto a casos asintomáticos, hay dos tipos clínicos de aparición de la enfermedad: filariasis inflamatoria, por la reacción granulomatosa aguda de los linfáticos junto a fenómenos alérgicos, localizada en extremidades y genitales, y filariasis obstructiva o elefantiasis, que es el resultado final, tras muchos años, de la obstrucción inflamatoria crónica de los vasos linfáticos.

Es de amplia distribución mundial (Africa, América y Asia). En el sur del Pacífico se ha descrito una variedad de la enfermedad transmitida por un mosquito diurno (*Aedes polynesyensis*).

Wuchereria malayi (Brugia malayi)

Es muy similar a *W. bancrofti*. Es de periodicidad nocturna y se transmite por mosquitos del género *Mansonia;* aparece en todo el este asiático (de Japón a Filipinas y la India). La localización de las lesiones casi nunca es genital y da típicas elefantiasis «en bota» del miembro inferior.

Onchocerca volvulus

La oncocercosis es una afección crónica del tejido subcutáneo, piel y ojos. El hombre posee los gusanos encapsulados en tumores fibrosos, que contienen un número variable de gusanos adultos y microfilarias. La hembra, que puede vivir hasta 15 años, pone más de 1 millón de microfilarias. El vector transmisor es la mosca negra, *Simulium damnosum*, que tras 6 a 10 días se convierte en infectante para nuevos huéspedes. La sintomatología clínica comprende la presencia de 3 a 6 nódulos pruriginosos, en zonas descubiertas, en los que se encuentran los gusanos y una fuerte reacción inflamatoria frente a cuerpo extraño, alrededor. La dermatitis en la región inguinal, con pérdida del tejido elástico, conduce a una alteración que se conoce como «ingle colgante». La manifestación más grave es la del ojo, donde las microfilarias producen lesiones oculares, conjuntivales, corneales y retinianas, que pueden ser graves y llevar a la ceguera. Es típica de Africa Central y América Central, donde afecta a más de 30 millones de individuos, y es la principal causa de ceguera en esas zonas.

Dipetalonema perstans

Los adultos (8 cm la hembra y 4,5 cm el macho) se encuentran en cavidades (peritoneo, pleura, pericardio), y aparecen las microfilarias en la sangre periférica. Los vectores son los «jejenes» o *Culicoides*. La parasitosis aparece en Africa tropical. *Mansonella ozzardi*, clínica y epidemiológicamente, es muy similar.

Loa loa

Los gusanos adultos (30-50 mm × 0,3-0,5 mm) habitan en el tejido celular subcutáneo y las microfilarias pasan a la sangre con periodicidad diurna, donde insectos tabánidos del género *Chrysops* constituyen el artrópodo vector. Los gusanos adultos emigran por el tejido subcutáneo, pero son peligrosos al pasar por la conjuntiva. La emigración con hinchazones fugitivas (edema, prurito) constituyen el cuadro del edema de Calabar, como se ha llamado a esta enfermedad.

Diagnóstico

Junto a los datos clínicos reseñados, el diagnóstico de confirmación se realizará por la búsqueda del gusano o las

microfilarias y su identificación. La sangre, obtenida de noche o de día, según la periodicidad del parásito, se observará en fresco (movimiento de los hematíes por las filarias vivas) y teñida en frotis, para comprobar la presencia de vaina, los núcleos de la extremidad y el tamaño de la microfilaria (fig. 81-3 y tabla 81-1). En *O. volvulus* pueden buscarse microfilarias en los nódulos típicos, y la región escapular es la más idónea, aunque no existan nódulos en ella. Las microfilarias de *W. bancrofti* pueden visualizarse en la orina, por centrifugación. En *O. volvulus* y *Loa loa* pueden observarse los gusanos por debajo de la conjuntiva.

La eosinofilia o hipereosinofilia (40-80 %) aparece en todos los casos de filariasis y ayuda al diagnóstico.

Las filarias poseen antígenos grupoespecíficos y específicos de especie. De ahí la presencia de reacciones serológicas (fijación de complemento, ELISA, etc.) y de intradermorreacciones, que deberán valorarse cuidadosamente.

Tratamiento

El Hetrazan (dietilcarbazima), a dosis de 25 a 100 mg/kg durante 10 días, ha sido durante muchos años el único tratamiento médico. La ivermectina (obtenida de *Sacaromyces avermitidis*), a dosis única de 12 mg, ha demostrado en *O. volvulus* una extraordinaria acción sobre las filarias adultas y las larvas.

Pueden ser necesarios tratamientos quirúrgicos en las elefantiasis por *W. bancrofti*, los nódulos de *O. volvulus* y las extracciones oculares por *O. volvulus* y *L. loa*.

Profilaxis

La eliminación de portadores, diagnóstico precoz de los enfermos y lucha con insecticidas contra los vectores constituyen las bases de la prevención de estas enfermedades, que afectan a más de 200 millones de habitantes de las áreas tropicales y subtropicales.

Dracunculus medinensis

Además de la parasitación por diversas especies de la familia *Filarioidea*, el hombre puede ser parasitado por un helminto de hasta 1 m de longitud, perteneciente a la familia *Dracunculoidea*, que produce la filariasis de Medina.

El gusano adulto (12 mm el macho y 500-1.200 mm la hembra) se encuentra en los tejidos dérmicos, y cuando la hembra grávida puede descargar larvas (es vivípara), emigra a las partes más expuestas al contacto con el agua (brazos y piernas) produciendo con la extremidad cefálica una úlcera en la piel, y en contacto con ella un asa del útero hace prolapso y descarga larvas rabditoides. Estas son ingeridas por pequeños crustáceos del género *Cyclops*, donde maduran. El hombre se infecta al beber agua que contenga el copépodo *Cyclops*.

Los síntomas están marcados por la aparición del gusano en la piel: urticaria, eritema y aparición de la úlcera. El tratamiento clásico consistía en enrollar al gusano con una varilla y extraer varios centímetros al día. La extirpación quirúrgica da buenos resultados y el tratamiento con tiabendazol ha demostrado gran eficacia.

Este parasitismo es propio de regiones secas (Africa, Asia) con abastecimientos de aguas por pozos o baños públicos, donde tiene lugar la transmisión.

BIBLIOGRAFIA

Brown, H. W., y Neva, F. A.: Basic Clinical Parasitology, 5.ª ed. Appleton Century Crofts, Norwalk, 1983.

Faust, E. C.; Russel, P. F., y Jung, R. C.: Parasitología Clínica. Salvat Editores, Barcelona, 1974.

Kazura, J. W., y Grove, D. J.: Stage-specific antibody-dependent eosinophil-mediated destruction of *Trichinella spiralis*. Nature, 274, 588-589, 1978.

Levine, E.: Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man. Burgess, Minneapolis, 1968.

Patterson, R.; Roberts, M.; Slonka, G., y McAninch, J.: Estudio de las inmunoglobulinas y anticuerpos IgE, IgG e IgM en el suero de pacientes afectos de triquinosis. Am. J. Med. (ed. esp.), 1, 6, 639-644, 1975.

Piédrola Gil, G., y Cortina, P.: Triquinosis y equinococosis. En Piédrola, G., y cols. (dirs.): Medicina preventiva y social. Amaro, Madrid, 1980.

Capítulo 82

Artrópodos de interés sanitario

Gonzalo Piédrola-Angulo

Son animales invertebrados, de cuerpo segmentado y simetría bilateral, revestidos por un exoesqueleto quitinoso que envuelve una cavidad general o celoma y con apéndices pares articulados (del griego *artron*, articulación, y *poús*, pies).

Representan por sí solos el 80 % de las especies conocidas del reino animal y se calcula que existen 740.000 especies diferentes y más de 1 trillón de individuos. Esto se debe a su enorme fecundidad y poderosa capacidad de adaptación, basada en unas características morfológicas y fisiológicas bien conocidas.

Nos interesa su estudio por diversas razones: *a)* causan enfermedades humanas (sarna, miasis); *b)* son *vectores*, es decir, transmiten enfermedades; *c)* son molestos y desagradables al hombre en su parasitación (piojos, pulgas, cucarachas, mosquitos), y *d)* destruyen cosechas o zonas verdes y producen enfermedades en las aves y ganado, hechos que afectan indirectamente a la colectividad. Se ha afirmado que los artrópodos constituyen el mayor obstáculo al progreso del hombre.

Pero los artrópodos no son siempre perjudiciales. Así, por ejemplo, los insectos polinizadores y los productores de cera y miel; por otra parte, muchos artrópodos destruyen especies dañinas al hombre y otros constituyen alimento de animales superiores.

MORFOLOGIA GENERAL

Los artrópodos poseen una disposición metamérica, en la que destacan tres grandes segmentos o zonas, no siempre separados entre sí: la cabeza, el tórax y el abdomen (fig. 82-1).

El carácter morfológico fundamental es la ausencia de esqueleto interno, que está reemplazado por el tegumento cutáneo o cutícula, en el que se describen tres capas: la epicutícula, lipoproteica, que hace al animal impermeable al agua y permeable a los disolventes grasos; la exocutícula, gruesa, consistente y, a veces, pigmentada, y la endocutícula, la más ancha, formada por una proteína (la artropodina) y la quitina ($C_8H_{13}O_5N$), componente principal del exoesqueleto, que es un polisacárido nitrogenado compuesto de la unión de restos acetilados de glucosamina. Este revestimiento duro y resistente da la forma y protección, y permite la inserción de la musculatura interior y elementos de sostén de las vísceras. Como no es elástico, cuando el animal crece, debe ser sustituido por otro nuevo formado por debajo y desprenderse la capa externa endurecida (muda).

En la cavidad general del cuerpo, celoma, circula un líquido o hemolinfa, que baña todos los órganos (fig. 82-2).

El aparato digestivo es completo, con un extremo anterior, o boca, y otro terminal, o ano. Se divide en tres partes principales:

1. La parte anterior, quitinosa, consta de una cavidad bucal (dispuesta para lamer, chupar o masticar), una faringe muscular (que en insectos hematófagos actúa como bomba de succión), esófago y proventrículo. Su misión es la ingestión y trituración del alimento.
2. Un intestino medio no quitinizado para la digestión y absorción.
3. Un intestino posterior y recto, quitinizados para la acumulación y desecho de las materias fecales. En el esófago desembocan las glándulas salivales y en el intestino posterior, los tubos de Malpighio, a modo de sistema de excreción urinaria, que elimina los productos excretores del hemocele.

En las formas acuáticas, la respiración se realiza por branquias, y en las terrestres se inicia por los estigmas, que se hallan entre las metámeras y se comunican por las tráqueas, extensiones tubulares, directamente con la sangre, que no tiene hemoglobina.

El aparato circulatorio está formado por lagos sanguíneos; uno mayor es contráctil a modo de corazón, que impulsa la sangre a la aorta y pares de vasos, todos en posición dorsal. Junto a esta parte «cerrada», hay otra «abierta» o cavidad hemal, hemocele o celoma, donde se ponen en contacto los sistemas circulatorio y respiratorio.

El sistema nervioso consta de un cerebro dorsal o ganglio nervioso supraesofágico, unido por comisuras al ganglio subesofágico y éste a la cadena ganglionar ventral, por debajo del aparato digestivo. De la cadena ganglionar ventral, compuesta por ganglios torácicos y abdominales, salen nervios a los tejidos, órganos y cutícula, donde se implantan las cerdas sensitivas, que transmiten las impresiones de contacto, y los conos sensitivos. Los órganos sensoriales son de una gran variedad y complejidad, y destacan un par de ojos que pueden ser sencillos, u ocelos, o complejos, multifacetados, formados por gran cantidad de ojos elementales que

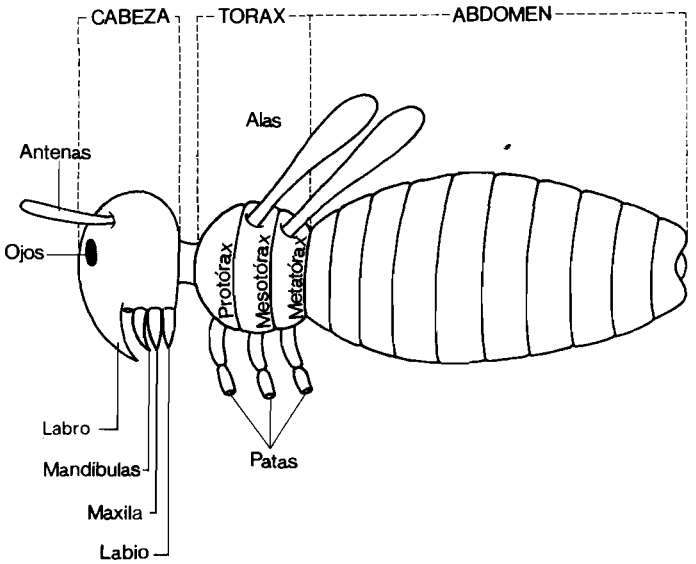


Fig. 82-1. Esquema general de un insecto. (Adaptado y modificado de Patton y Cragg, 1913.)

permiten una visión de 360°; las dos antenas permiten oler las posibles fuentes de alimentación o a la pareja sexual, a través de las ferormonas que emiten las hembras y que atraen al macho, a veces, a una distancia superior a los 10 km.

Los apéndices, pares, se han modificado en patas para andar, en las especies terrestres, y órganos de natación, en las acuáticas. Los apéndices cefálicos han sufrido adaptaciones como órganos de masticación, succión, lamido, perforación o sensitivos.

Los sexos son separados y la reproducción es sexual, aunque puede haber partenogénesis.

CICLO EVOLUTIVO

Los artrópodos se desarrollan mediante un proceso complejo, denominado metamorfosis. Sólo algunos insectos muy primitivos tienen un desarrollo *directo*, es decir, el individuo recién nacido es una réplica en pequeño del adulto.

En la metamorfosis *completa* o de transformación total se distinguen cuatro fases: huevo, larva, pupa (ninfa o crisálida) e imago (animal adulto). En ella, las fases larvarias son morfológicamente diferentes al adulto y viven y se alimentan en lugares diferentes a los de éste (p. ej., mosquitos).

En la metamorfosis *incompleta* o gradual existen tres etapas: huevo, ninfa e imago. En ella, las ninfas tienen el mismo aspecto, hábitat y medio de alimentación que el animal adulto (p. ej., piojos).

Todos los detalles citados, anatómicos, fisiológicos y del ciclo, poseen gran interés en la comprensión epidemiológica de las enfermedades producidas o vehiculadas por los artrópodos, así como en la lucha contra ellos.

IMPORTANCIA MEDICO-SANITARIA

Es doble, como productores de enfermedades o como vectores de éstas.

1. Hay artrópodos que parasitan al hombre y le provocan enfermedades como la sarna y pediculosis. Otros causan cuadros alérgicos de importancia (ácaros domésticos) o inoculan venenos (arañas, escorpiones).
2. Los *vectores* son aquellos artrópodos capaces de llevar un agente infeccioso desde la fuente de infección (animal o humana) a un huésped susceptible. Hay dos tipos de vectores, los pasivos o mecánicos, y los activos o biológicos.

En los vectores pasivos, el artrópodo es un transportador simple, en el que el agente infeccioso no evoluciona ni se

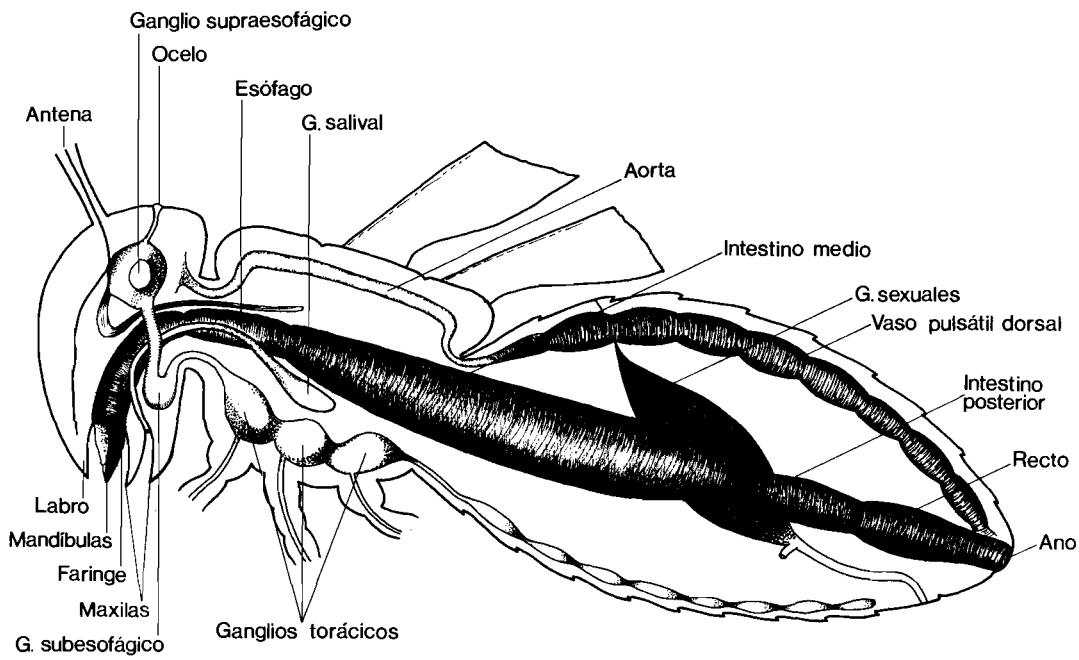


Fig. 82-2. Estructura interna de un insecto.

Tabla 82-1. Clasificación de los principales artrópodos de interés epidemiológico

Reino animal	División o *Phylum*	Clase	Orden	Familia	Género	Especies tipo	Enfermedades que transmiten algunas especies	
Metazoos	Artrópodos	Insectos o hexápodos	Dípteros	*Culicidae*	*Anopheles*	*A. maculipennis*	Paludismo	*Voladores*
					Aedes	*A. aegypti*	Fiebre amarilla Dengue	
					Culex	*C. fatigans*	Filariasis	
						C. tarsalis	Encefalitis endémica	
				Muscidae	*Musca*	*M. domestica*	Infecciones gastrointestinales Parasitosis intestinales	
					Glossina	*G. palpalis*	Tripanosomiasis africana	
					Stomoxys	*S. calcitrans*	Carbunco. Poliomielitis	
				Psychodidae	*Phlebotomus*	*P. perniciosus*	Leishmaniasis visceral y cutánea	
						P. papatasii		
				Simulidae	*Simulium*	*S. damnosum*	Filariasis. Oncocercosis	
				Tabanidae	*Chrysops*	*C. diamidiatus*	Pian. Filariasis	
			Hemípteros	*Reduviidae*	*Triatoma*	*T. megistus*	Enfermedad de Chagas	*Andadores o marchadores*
			Afanípteros	*Pulicidae*	*Xenopsylla*	*X. cheopis*	Peste bubónica Tifus murino	
						Ceratophilus	Tularemia	
			Anopluros	*Pediculidae*	*Pediculus*	*P. corporis*	Tifus exantemático epidémico Fiebre recurrente cosmopolita Tifus de las trincheras	
		Arácnidos u octópodos	Ixodidos	*Ixodidae*	*Rhipicephalus*	*R. sanguineus*	Tifus exantemático mediterráneo	
					Ixodes	*I. ricinus*	Encefalitis de Europa Central	
				Argasinae	*Ornithodoros*	*O. erraticus*	Fiebre recurrente hispano-africana	
			Acarianos	*Trombididae*	*Trombicula*	*T. akamushi*	Tifus de las malezas	
					Sarcoptes	*S. scabiei*	Sarna (parásito directo)	

Tomado de Piédrola Gil (1983).

multiplica; esto comporta que la asociación agente-vector sea inespecífica y no la vía única o principal de transmisión de la enfermedad. Es el caso de la mosca doméstica, que actúa como vehículo pasivo de salmonelosis, enterovirus, protozoos y huevos de helmintos.

En los vectores activos, el artrópodo es un huésped indispensable en el ciclo vital del agente causal, que en él evoluciona o se multiplica; la asociación agente-vector es muy específica (p. ej., *Anopheles-Plasmodium*) y es la vía única o principal de la transmisión.

Tabla 82-2. Principales arácnidos de interés médico-sanitario

Clase	Orden	Superfamilia	Familia	Género	Especie	Enfermedad
Arachnida	*Acarina*	*Sarcoptoidea*		*Sarcoptes*	*S. scabiei*	Productor de la sarna
		Demodicoidea		*Demodex*	*D. folliculorum*	Productor de demodicidosis
		Trombidoidea		*Trombicula*	*T. akamushi*	Virus de fiebre fluvial del Japón
		Tyroglyphoidea		*Tyroglyphus*	*T. longior*	Hipersensibilidades
		Ixodoidea	*Ixodidae*	*Rhipicephalus*	*R. sanguineus*	Fiebre recurrente, rickettsiosis, tularemia
				Dermacentor	*D. andersoni*	Virosis, rickettsiosis, tularemia
			Argasidae	*Argas*	*A. persicus*	Espiroquetosis
				Ornithodoros	*O. moubata*	Fiebres recurrentes y rickettsiosis
	Scorpionida					Picaduras
	Araneida					Picaduras

Los mecanismos por los que tiene lugar la evolución y posterior vehiculización del agente son muy variados y característicos de cada caso. Así, tenemos ciclos puramente digestivos, con simple paso por el tubo *(Triatoma-Trypanosoma)*, reproducción en las células epiteliales del intestino *(Pediculus-Rickettsia)* o bloqueo del proventrículo *(Pulex-Yersinia)*. En otros casos, el mecanismo es salival *(Glossina-Trypanosoma)* o digestivo-salival *(Anopheles-Plasmodium)*.

Por último, el agente infeccioso es depositado por el vector sobre la piel y resulta introducido por rascado o aplastamiento sobre ella *(Pediculus-Borrelia)*.

CLASIFICACION

Dentro del *Phylum Arthropoda* se distinguen doce clases, de las que las más importantes son: *Crustacea, Diplopoda, Chilopoda, Pentastomida, Arachnida* e *Insecta*.

Las tres primeras clases apenas tienen interés médico. Entre los crustáceos recordamos que, en el orden *Copepoda*, se encuentran especies de *Cyclops*, que en el agua dulce son huéspedes intermediarios de helmintos como el botriocéfalo y la filaria de Medina *(D. medinensis)*. Entre los *Decapoda* o grandes crustáceos, varias especies de langostinos y cangrejos de agua dulce son huéspedes intermediarios de *Paragonimus westermani*.

Los milpiés *(Diplopoda)* no son venenosos, pero sí los ciempiés *(Chilopoda)*, que con un tamaño de hasta 25 cm secretan un veneno paralizante y necrótico a través del par de pinzas cefálico.

En la clase *Arachnida* se distinguen tres órdenes principales: *Scorpiones, Araneae* y *Acari*. En la clase *Insecta* o *Hexapoda*, los principales órdenes son: *Mallophaga, Anoplura, Blattaria, Heteroptera, Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Diptera, Siphonaptera*.

En las tablas 82-1, 82-2 y 82-5 se recogen las principales especies vectoras y las enfermedades transmitidas.

Arachnida

Son artrópodos con el cuerpo dividido en cefalotórax y abdomen; los adultos poseen cuatro pares de patas, carecen de antenas y son apteros. Su metamorfosis es incompleta. Desde el punto de vista médico interesan tres órdenes: *Acarina, Araneida* y *Scorpionida*.

ACARINA

Tienen el cefalotórax y el abdomen unidos, sin segmentación externa. Además, destaca el *capítulo* o rostro, estructura prominente en el extremo anterior del cuerpo y que simula una falsa cabeza, aunque no es más que un aparato bucal especializado. Está formado por un par de quelíceros con gancho articulado terminal, un par de pedipalpos y el hipostoma, impar y central, con una superficie áspera o dentada, que sirve para la fijación en el punto de alimentación (fig. 82-5). Aunque los adultos poseen cuatro pares de patas, las larvas sólo tienen tres.

Dentro de este orden hay dos grupos de arácnidos bien definidos: los ácaros y las garrapatas (tabla 82-2). Los ácaros son pequeños (alrededor de 1 mm), presentan tres estadios ninfales y poseen un hipostoma provisto de prolongaciones fijadoras, como dientes. Las garrapatas son de mayor tamaño (alrededor de 1 cm), poseen un hipostoma armado adaptado para chupar sangre y presentan dos estados ninfales; también se diferencian, porque éstas poseen, detrás del segmento basal del tercer o cuarto par de patas, un par de espiráculos traqueales, que no tienen los ácaros (fig. 82-5).

Acaros

Los ácaros tienen interés médico por tres razones: ser productores de enfermedades (sarna y otras dermatitis), ser vectores de otras y dar lugar a reacciones de hipersensibilidad cutánea o asmática (fig. 82-3).

Sarna

La sarna o escabiosis es una ectoparasitosis producida por *Sarcoptes scabiei* (fig. 82-4), que, en su variedad *hominis*, sólo afecta a la especie humana. Este es un ácaro pequeño, de unos 200 µm el macho y 300-400 µm la hembra, de forma oval, con el capítulo que sobresale por la extremidad anterior. Posee numerosas cerdas y espinas quitinosas dirigidas hacia atrás. Posee cuatro pares de patas, terminadas en ventosas o pulvillos en los dos pares anteriores, y cerdas largas en los otros dos, menos en el macho que el cuarto par, también, tiene ventosas.

El parásito realiza un ciclo evolutivo en 1-3 semanas, que tiene gran interés, pues explica la sintomatología de la enfermedad. La hembra fecundada excava un túnel en el espesor de la capa epitelial de la epidermis, donde deposita diariamente de 3 a 5 huevos de unos 150 µm de tamaño; en los días siguientes (hasta 30) sigue horadando el epitelio y aparece en el extremo distal del túnel donde morirá. En el túnel aparecen los huevos y deyecciones, productores del prurito. Los huevos evolucionan en 3-4 días a ninfas hexápodas, que atraviesan el techo del túnel y salen a la superficie de la piel. Aquí en 12 a 16 días pasan a ninfas octópodas (dos fases en la hembra y una en el macho) y adultos infectantes; la fecundación tiene lugar en la misma superficie o en el túnel de la hembra.

El poder infectante es bajo y se requiere un contacto directo y prolongado para su transmisión; de ahí el carácter familiar, la importancia del hacinamiento y la promiscuidad, y sobre todo el hecho de que se trate en ocasiones de una enfermedad de transmisión sexual. Se encuentra en incremento, en todas las zonas del mundo.

En la clínica, tras un período de incubación de 5 a 15 días, destaca la tríada sintomática de prurito, surco acarino y vesícula perlada.

Las zonas más afectadas son los espacios interdigitales y el dorso de la mano, cara flexora de las muñecas y antebra-

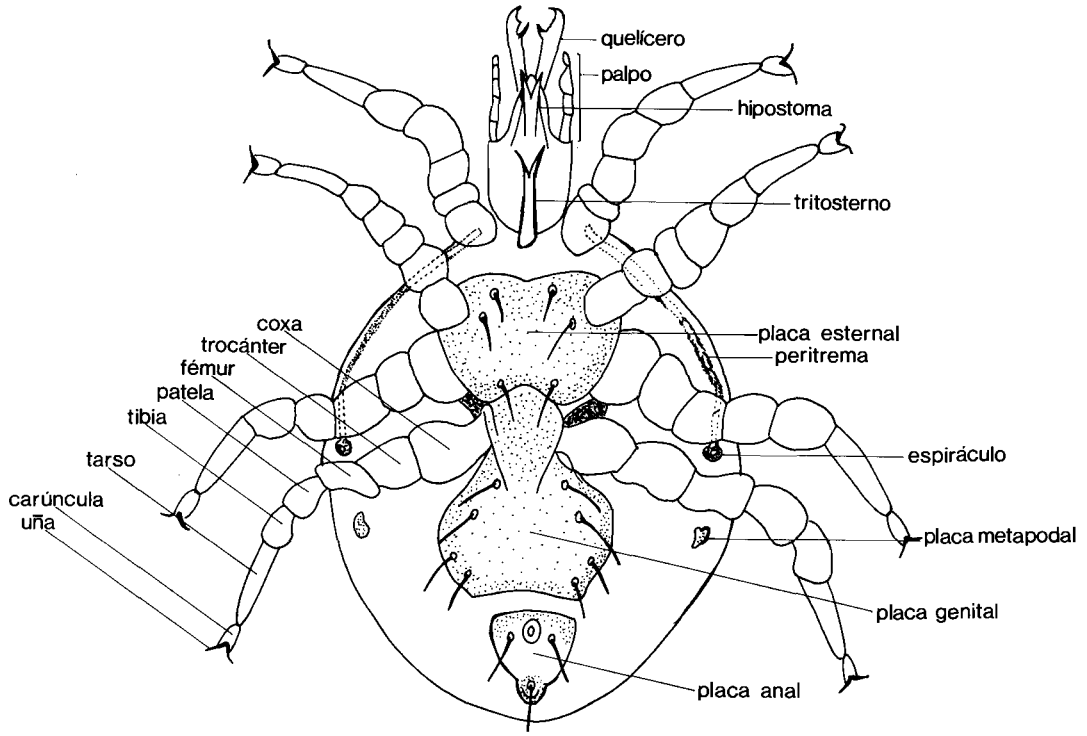


Fig. 82-3. Esquema general de un ácaro.

zo, codos, axilas, surcos submamarios y pezones, cintura, nalgas, pliegues interglúteo y poplíteo, y genitales. En ellas aparece el surco *acarino*, una línea de 1 a 10 mm de longitud, rojiza y prominente, que termina en una vesícula transparente, la *vesícula perlada*. Estas lesiones, visibles mejor con lupa, son el índice del túnel y el parásito que lo forma.

El prurito especialmente de noche es intenso, y aparece el prurigo formado por elementos máculo-papulosos que se infectan secundariamente y dan pústulas y placas de eczema. El diagnóstico no es difícil por la clínica, y, a veces, puede demostrarse el ácaro en las lesiones. Sin embargo, existen formas nodulares, otras en lactantes, la denominada escabiosis «oculta» tras el tratamiento con corticoides y otras formas clínicas, que dificultan el diagnóstico exacto.

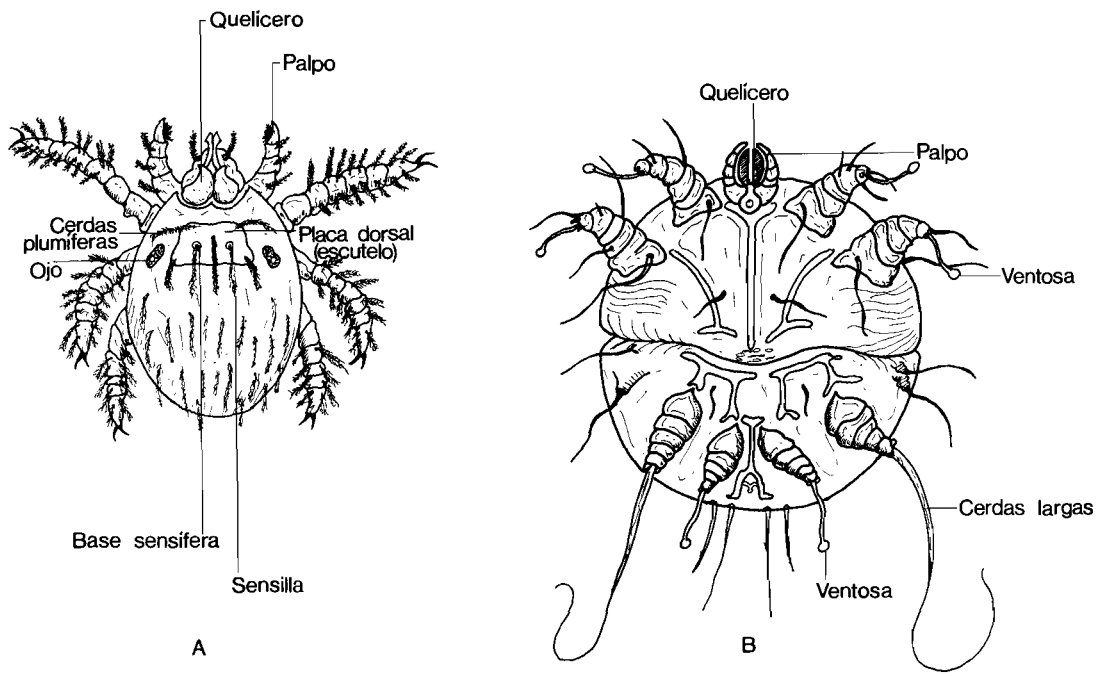


Fig. 82-4. A) Vista dorsal de larva de *Trombicula akamushi*. B) *Sarcoptes scabiei*, macho, vista ventral.

El tratamiento de elección consiste en friccionar toda la superficie corporal con lindane al 1 %. También puede usarse el benzoato de bencilo al 12 %. Existe un preparado comercial con ambos escabicidas. Otros productos utilizables son la N-etil-o-crotonotoluidina y el azufre precipitado al 6 %.

En todos los casos, después de un baño se cubre o fricciona todo el cuerpo con el producto elegido y se deja de 12 a 24 horas en contacto. Tras un nuevo baño del individuo, se retirarán las ropas íntimas y de cama. En todos los casos se hará tratamiento familiar.

La sarna noruega es una forma especial de parasitación en individuos anérgicos; se caracteriza por grandes excrecencias queratósicas y no pruriginosas, principalmente en los genitales.

Demodicidosis

Diversas especies de *Demodex* viven en los folículos pilosos y glándulas sebáceas de los mamíferos, perros y gatos a menudo. En el hombre se han descrito dos especies: *D. folliculorum* y *D. brevis*. Este ácaro vive en zonas poco profundas de zonas pilosas, pestañas, cejas y glándulas sebáceas. Para la mayoría de los autores son ácaros comensales sin valor patógeno alguno; para otros serían responsables de cuadros de «pitiriasis *folliculorum*», acné, queratosis y epiteliomas; las lesiones consisten en un eritema seco crónico, con prurito moderado.

Otros ácaros pueden causar dermatitis por contacto ocasional del hombre con los más diversos animales, domésticos o no. Así sucede con especies de los géneros *Ornithonyssus, Dermanyssus, Allodermanyssus, Pyemotes* y *Trombicula*. Causan lesiones máculo-papulosas, acompañadas de fuerte prurito. *Trombicula alfreddugesi*, en Norteamérica, y *T. autumnalis*, en Europa, son parásitos muy molestos.

El tratamiento de estas lesiones es similar al de la sarna.

Acaros vectores de enfermedades

Diversas especies del género *Trombicula* vehiculan la fiebre tsutsugamushi o fiebre fluvial japonesa, desde los reservorios silvestres o domésticos (ratas y otros roedores, principalmente) al hombre. La enfermedad, producida por la *Rickettsia tsutsugamushi*, se adquiriría por la inoculación del ácaro previamente infectado, ya que los microorganismos se multiplican en el intestino y todo el celoma del artrópodo, y afectan incluso las células germinales, por lo que las larvas de las hembras infestadas también lo estarán (transmisión transovárica). Las especies más frecuentemente halladas como transmisoras son *T. akamushi, T. deliensis* y *T. scutellaris;* se conocen vulgarmente como garrapatillas de las cosechas, garrapatillas rojas o chinches coloradas. Son garrapatas pequeñas, rojas o anaranjadas y con el cuerpo cubierto por pelos diminutos (fig. 82-4 A). Precisamente, tsutsugamushi es un término que significa chinche peligrosa. Residen en lugares húmedos con maleza o pasto.

Acaros productores de alergias

Algunos ácaros son capaces de producir una fuerte hipersensibilidad, cuando entran en contacto con sujetos sensibles. Pueden provocar trastornos cutáneos (p. ej., el prurigo de los bodegueros) o respiratorios (asma bronquial) cuando

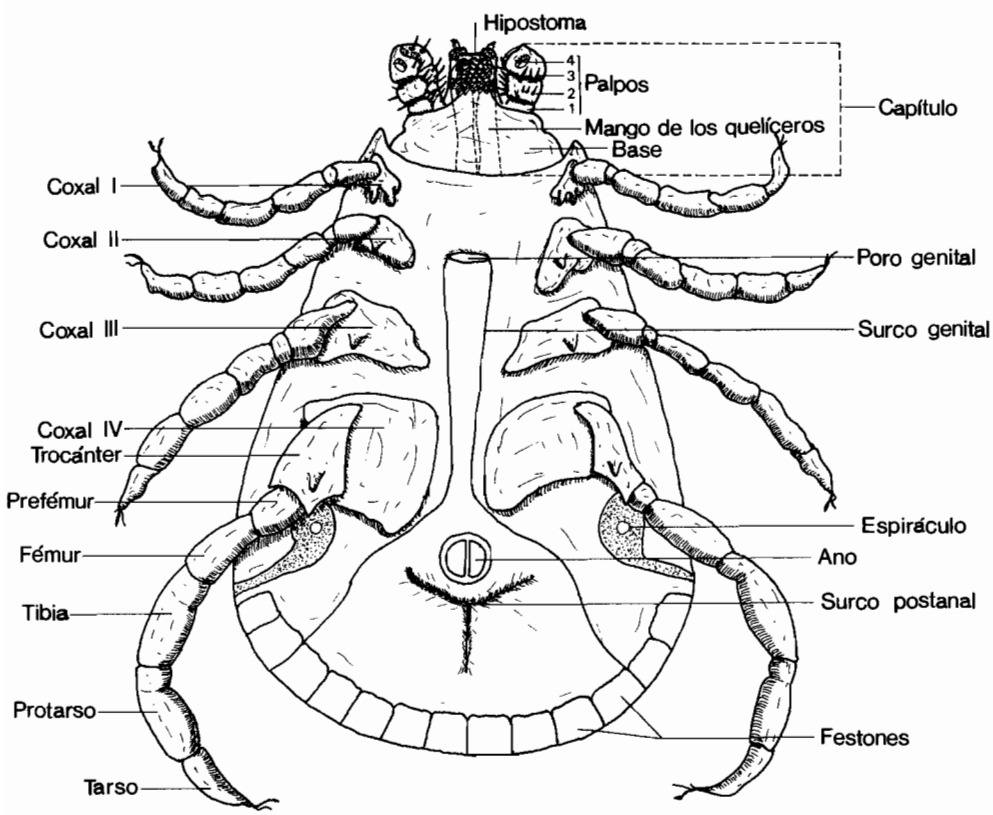


Fig. 82-5. Esquema general de una garrapata *(Dermacentor)*, cara ventral.

se entra en locales industriales donde se encuentran o por el polvo de las habitaciones; los géneros involucrados son *Tyroglyphus, Glyciphagus, Acarus* y *Dermathophagoides.*

Garrapatas

Las garrapatas son de mayor tamaño que los ácaros (alrededor de 10-15 mm) y poseen un hipostoma armado y los espiráculos traqueales bien definidos (fig. 82-5). En su metamorfosis hay dos estadios ninfales (ninfa hexápoda y octópoda). Son hematófagos y poseen el capítulo o falsa cabeza, que tiene una base y de fuera a dentro dos pedipalpos, un par de quelíceros y un gran hipostoma, con dientes curvados hacia atrás, que fijan el parásito como un ancla a los tejidos del huésped.

Las 300 especies de garrapatas, ectoparásitos de mamíferos, aves, reptiles, anfibios y el hombre, se dividen en dos familias: *Argasidae*, o garrapatas blandas, e *Ixodidae*, o garrapatas de cuerpo duro. Las diferencias se recogen en la tabla 82-3.

Las garrapatas blandas cosmopolitas, pero con preferencia de climas cálidos, se esconden en grietas durante el día y se alimentan de sangre por la noche, dos o más veces en las etapas de ninfa y adulto; la hembra adulta, después de alimentarse, pone alrededor de 200 huevos. Destacan los géneros *Ornithodoros (moubata, erraticus), Argas* y *Otobius* (fig. 82-6).

Los ixódidos se llaman garrapatas duras por presentar un escudo dorsal (fig. 82-7), que, en el macho, cubre todo el cuerpo y, en la hembra, sólo el tercio anterior. En cada etapa del desarrollo toman una sola comida del huésped, y la hembra pone una sola vez entre 2.000 y 10.000 huevos. La permanencia en el huésped es muy prolongada, a diferencia de *Argasidae*. Destacan los géneros *Rhipicephalus (R. sanguineus), Dermacentor (D. andersoni), Amblyomma* e *Ixodes.*

Las garrapatas, aparte el interés económico por afectación de animales domésticos, tienen un interés sanitario por ser vehículos de enfermedades, por el daño mecánico que pueden producir y por la aparición de cuadros paralíticos tras su picadura.

1. Las garrapatas como vectores. En la tabla 82-4 se recogen, de modo muy resumido, las enfermedades transmitidas por garrapatas. En muchas de estas enfermedades, la garrapata no sólo es vector, sino que en ella los agentes etiológicos se reproducen y se transmiten a la descendencia; son verdaderos reservorios.

Tabla 82-3. Principales diferencias entre las familias de garrapatas Argasidae e Ixodidae

	Argasidae	*Ixodidae*
Escudo dorsal	No existe	Sí existe
Capítulo visible dorsalmente	No visible	Visible
Localización de espiráculos	Detrás del III par, segmentos coxales	Detrás del IV par, segmentos coxales
Espolones en segmentos coxales	No existen	Sí existen
Pulvillos en segmentos terminales de las patas	No existen	Sí existen

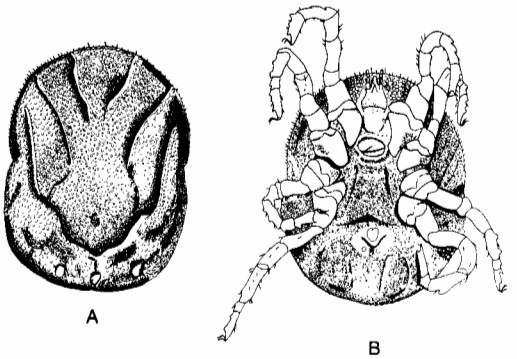


Fig. 82-6. *Ornithodoros moubata*, hembra. A) Vista dorsal. B) Vista ventral.

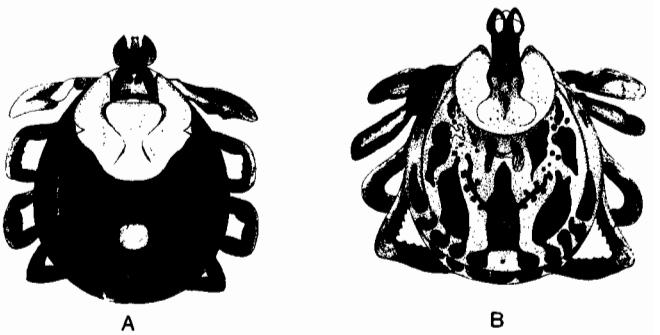


Fig. 82-7. *Dermacentor andersoni*, vista dorsal de la hembra (A) y del macho (B).

Recientemente se ha descrito que la enfermedad de Lyme, caracterizada por el eritema crónico migrans, artritis y alteraciones cardiológicas, y producida por *Borrelia burgdorferi*, es transmitida por especies de *Ixodes, I. dammini* e *I. pacificum.*

2. La presencia del capítulo de las garrapatas en los tejidos provoca una reacción inflamatoria local, que se agrava al intentar extraer ésta forzadamente. En estos casos es mejor dejar que se desprenda por sí sola o colocar sobre el cuerpo unas gotas de éter o cloroformo, que facilitan la extracción.

3. Si la picadura es cercana a la base del cerebro o medula espinal, puede aparecer una toxemia, con hipertermia, alteraciones de los pares craneales, parálisis ascendente, alteraciones cardiorrespiratorias y muerte. Las especies más involucradas en estos cuadros pertenecen a los géneros *Dermacentor, Ixodes* y *Ornithodoros.*

El control sanitario de todos los ácaros y garrapatas se realiza con insecticidas clorados, organofosforados o los nuevos piretroides sintéticos.

ARANEIDA

Las arañas son animales depredadores, que capturan vivas a sus víctimas, con el auxilio de telas o redes o apresándolas directamente. Estas son inmovilizadas por una toxina paralizante que secretan por los quelíceros del cefalotórax; éste se encuentra marcadamente separado del abdomen.

Tabla 82-4. Principales enfermedades vehiculadas por garrapatas

	Enfermedad	Agente causal	Vectores
Viriasis	Fiebre por garrapatas del Colorado	Arbovirus CTF	*Dermacentor*
	Fiebres hemorrágicas	Arbovirus OHF	*Dermacentor, Hyalomma*
	Looping-ill	Arbovirus	*Ixodes, Rhipicephalus*
	Encefalitis por garrapatas	Arbovirus CET y FER	
Rickettsiosis	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	*R. rickettsii*	*Amblyomma, Dermacentor, Ornithodoros, Rhipicephalus*
	Fiebre botonosa mediterránea	*R. conorii*	*Amblyomma, Rhipicephalus, Hyalomma*
	Fiebre Q	*C. burnetii*	*Dermacentor, Amblyomma*
Bacterianas	Fiebres recurrentes	*B. duttoni*	*Ornithodoros, Rhipicephalus*
	Fiebre recurrente hispano-africana	*B. hispanica*	*Ornithodoros*
	Enfermedad de Lyme	*B. burgdorferi*	*Ixodes*
	Tularemia	*F. tularensis*	*Amblyomma, Dermacentor, Ixodes, Rhipicephalus*
Protozoosis	Babesiosis o piroplasmosis	*B. microti*	*Boophilus*

El hombre rara vez es afectado por los venenos de las arañas, y sólo algunas especies pueden originar cuadros graves.

La tarántula, araña de los platanares, es muy agresiva y ataca saltando hacia su víctima. En el hombre, las lesiones son ligeras o, a lo sumo, dolorosas.

La araña viuda negra, del trigo o capulina (género *Latrodectus*) posee un veneno neurotóxico y no hemolítico, que produce un fuerte dolor local con anestesia; posteriormente, los dolores y otros signos neurológicos se extienden por todo el cuerpo y llevan a la muerte por insuficiencia cardiorrespiratoria. La araña (de 1,5 a 3 cm) es de hábitos diurnos y afecta a los trabajadores en el campo, durante los meses de verano.

La araña parda (género *Loxosceles*) se caracteriza por la acción necrótica de su veneno (aracnidismo necrótico). Con un tamaño de 1 cm, vive en el interior de las casas durante todo el año y pica a niños y mujeres, principalmente de noche. A la hora de su picadura, se produce un edema doloroso, que se transforma en gangrena y lesiones graves que pueden llevar a la muerte. Se distingue un loxoscelismo cutáneo y otro cutáneo-visceral.

El tratamiento de estos cuadros es etiológico, cuando se dispone de la antitoxina específica; local con torniquete o escisión con aspiración, y sintomático con antialérgicos (calcio, antihistamínicos), corticoides, antiálgicos, antiespasmódicos (metocarbamol), etc.

SCORPIONIDA

Los alacranes tienen un cuerpo alargado con cefalotórax no segmentado y grandes pedipalpos terminados por fuertes pinzas; la parte anterior del abdomen es tan ancha como el cefalotórax y está compuesta de siete segmentos, mientras que la posterior es estrecha, con sus segmentos flexibles y el terminal piriforme que acaba en una espina o aguijón hueco, por donde sale el veneno.

Viven bajo las rocas o en lugares oscuros, aunque en la época de lluvias pueden entrar en las viviendas. Las personas entran en contacto con ellos, al pisarlos descalzos o al tocarlos con las manos cuando están bajo las piedras, en las ropas o zapatos.

El cuadro clínico, especialmente grave en los niños, se caracteriza por dolor punzante, inflamación y linfangitis, en el lugar de la picadura, y síntomas generales neurológicos y hemorrágicos, con parálisis, convulsiones espasmos, shock y muerte.

Existen gran cantidad de especies de alacranes en el mundo, y destacan por su peligrosidad los géneros *Buthus* en el área mediterránea, *Centruroides* en Norteamérica, *Tityus* en Brasil y *Tamulus* en la India.

El tratamiento comenzará siempre por la instalación de un torniquete, aspiración del veneno e introducción de la zona de la picadura en hielo picado. A la terapia con antitoxina específica se añadirá la sintomática.

Insecta

Esta clase está constituida por artrópodos que poseen respiración traqueal y tres pares de patas, razón por la cual se conoce también como *Hexapoda*. Forman la clase más numerosa de los artrópodos y, por tanto, de todas las especies animales (70 %). Muy pocas de ellas vehiculan enfermedades, pero éstas son de tal importancia que han condicionado la vida y la economía de grandes áreas del globo terráqueo.

Caracteres generales

Son los citados en los artrópodos, con algunas variantes. Como vimos en las generalidades de los artrópodos (fig. 82-8), el cuerpo se encuentra dividido en cabeza, tórax (con tres segmentos: protórax, mesotórax y metatórax, de los que salen cada par de patas) y abdomen (con hasta once segmentos, de los cuales los finales están modificados para

fines sexuales y donde se halla el poro genital). En la cabeza se encuentran los órganos sensoriales: las antenas, los ojos simples o facetados y los órganos bucales, lamedores, perforadores, succionadores o masticadores.

Los sistemas nervioso, respiratorio, circulatorio y digestivo son los ya descritos (fig. 82-9). Los órganos sexuales del macho son dos testículos, una vesícula seminal, glándulas accesorias y el hipopigio. Los de la hembra son el ovario, oviductos, espermateca, glándulas accesorias y ovipositor. Todos ellos se encuentran en el abdomen. Los insectos pueden ser ovíparos, ovovivíparos y vivíparos, y pueden tener los tres tipos de ciclo vital, que sirven de base para su clasificación: desarrollo directo, metamorfosis incompleta o completa. La duración de la vida en las etapas larvaria y adulta varía con las especies y el medio. Una vez alcanzado un nivel favorable de población, la mayoría de los insectos regulan la densidad por autolimitación, emigrando a zonas vecinas, por canibalismo o por ajuste a la temperatura y precipitación pluvial.

Todos los estudios sobre la anatomía, fisiología y ecología de los insectos tienen, junto al valor científico biológico, la finalidad de su control con fines económicos y sanitarios. La aparición de los insecticidas ha causado un gran avance en el mundo, pero no se puede olvidar que el uso inadecuado de éstos ha provocado la resistencia de los insectos, que es no sólo la capacidad de sobrevivir a dosis previamente letales, sino también la de transmitir dicha propiedad a la descendencia. Por otro lado, se han observado cambios de comportamiento en muchos insectos, con los que evitan

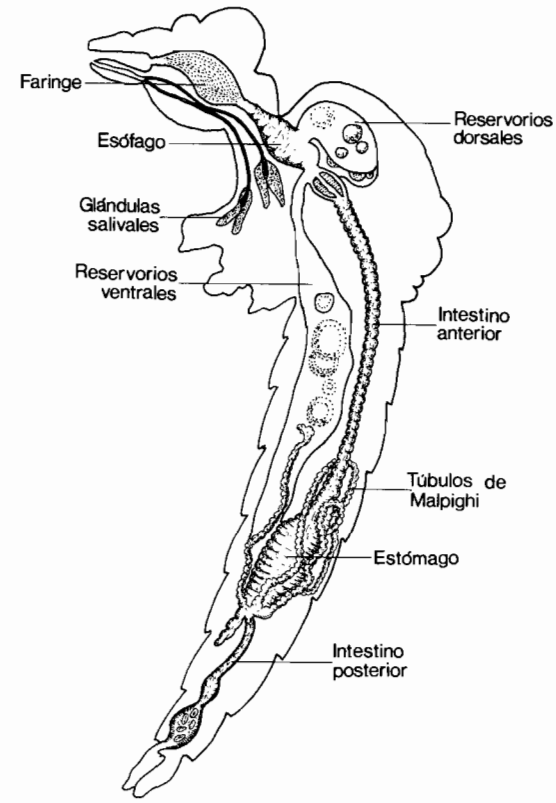


Fig. 82-9. Estructura interna de un mosquito culícido.

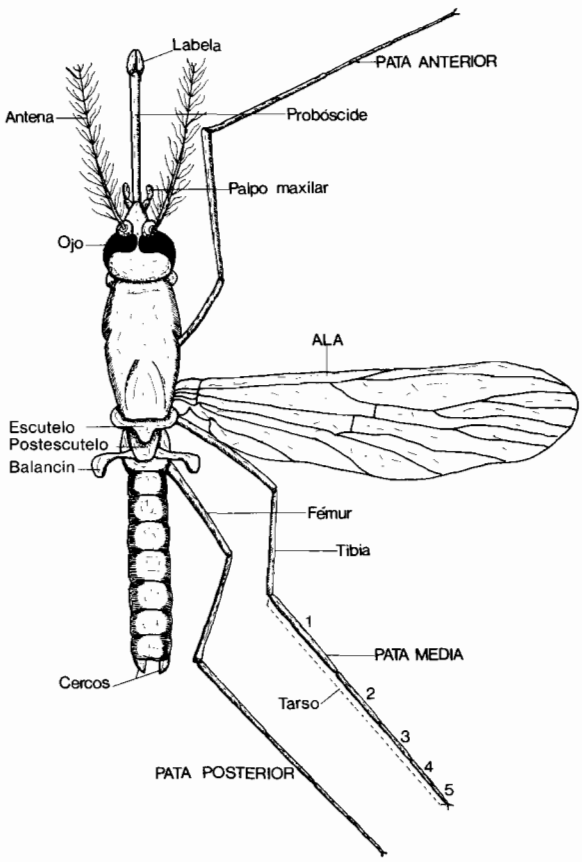


Fig. 82-8. Esquema de un mosquito hembra.

entrar en contacto con las sustancias tóxicas empleadas para su destrucción.

Clasificación

En la clase *Insecta* se distinguen, según los autores, de 23 a 38 órdenes distintos, de los que cuatro son de gran importancia médica y otros cuatro, de mucho menor (tabla 82-5). Los cuatro órdenes principales son:

1. *Diptera:* Poseen un par de alas membranosas en el mesotórax, y el segundo par está reemplazado por halterios o balancines; el órgano bucal está adaptado para chupar y tiene metamorfosis completa. Son las moscas y mosquitos.
2. *Heteroptera:* Poseen dos pares de alas, aunque algunas especies no tienen; el órgano bucal está adaptado para picar y chupar; muestran metamorfosis incompleta. Son las chinches.
3. *Siphonaptera:* Sin alas, tienen el tercer par de patas muy largas, adaptadas para saltar, órganos bucales adaptados para succionar y chupar, y metamorfosis completa. Son las pulgas.
4. *Anoplura:* Sin alas, poseen tarsos con uñas para la fijación y partes bucales adaptadas para picar y chupar; no muestran metamorfosis. Son los piojos.

Otros órdenes de menor interés aquí son *Hymenoptera* (abejas, avispas, hormigas), *Blattaria* (cucarachas), *Coleoptera* (escarabajos) y *Lepidoptera* (mariposas, polillas).

DIPTERA

Definidos antes, los dípteros tienen un tamaño entre 0,5 y 50 mm y presentan, junto a un par de alas membranosas insertas en el ángulo dorsolateral del mesotórax, un segundo par atrófico, de pequeños halterios o balancines (fig. 82-8).

La cabeza, separada del tórax, se mueve independientemente de éste y está cubierta de pequeñas placas quitinosas o escleritas. Posee un par de ojos compuestos y algunos ojos simples u ocelos. Las antenas, situadas entre los ojos compuestos, son unos apéndices móviles, segmentados, que sirven para la clasificación de familias y géneros. Por debajo de su salida se encuentran los órganos bucales adaptados para chupar o picar y chupar. En la mosca común, la boca consta de tres partes: rostro o pico, hostelo (formado por labro, hipofaringe y labio) y labela. En el mosquito hembra (fig. 82-10 A) existen un labro, hipofaringe, un par de mandíbulas, las maxilas y el labio con las labelas; todos estos órganos se introducen en la piel de la víctima, menos el último que se pliega a medida que los demás entran. Las glándulas salivales desembocan en la base de la hipofaringe.

Las alas son delgadas y pueden poseer pelos, espinas o escamas o estar desnudas. Las venas que en ellas poseen son de gran interés taxonómico. Las seis patas torácicas poseen diversos segmentos: coxa, trocánter, fémur, tibia, tarso (con cinco artejos) y pulvillos pilosos (fig. 82-8).

Los mosquitos y la mayor parte de las moscas son ovíparos; algunas moscas, como la tse-tsé y la de la carne, son vivíparas. Las larvas pueden tener hasta 12 segmentos y la cabeza desarrollada o no. Después de la última (si hay varias) fase larvaria, se transforman en pupa. Si la pupa se rompe en forma de T, se habló de *Ortorrhapha* y, si la rotura es por una abertura circular por donde sale el insecto encerrado en el «pupario», se denominó *Cyclorrhapha* (moscas). Hoy el primer grupo se divide en suborden *Nematocera* (antenas largas y delgadas; son los mosquitos, flebotomos, etc.) y *Brachicera* (antenas cortas y gruesas; son los tábanos) (tabla 82-5).

Familia Culicidae

Los mosquitos son pequeños dípteros (5 a 10 mm) de alas largas y estrechas, cubiertas de escamas. Su probóscide o trompa es larga y recta, adaptada para perforar y succionar sólo en las hembras (fig. 82-8). En el macho, las antenas poseen pelos largos y abundantes («plumosas») y los dos palpos maxilares son tan largos como la trompa. La hembra posee palpos cortos (con excepciones) y antenas no «plumosas». Las escamas que cubren el tórax sirven para diferenciación de especies. El abdomen posee once segmentos, los tres últimos diferenciados para los órganos genitales.

El aparato digestivo es el típico de los insectos, y destaca que en el momento de la picadura se vacía la secreción de las dos glándulas salivales, de tal forma que la saliva es expelida en gotas, antes de que el mosquito empiece la succión de sangre. La faringe es un bulbo muscular que facilita la succión (fig. 82-9).

Los mosquitos presentan una metamorfosis completa; las tres primeras etapas de huevo, larva y pupa se producen en el agua, y el insecto adulto es volador, la hembra, hematófaga y el macho, fitófago. Los caracteres de las cuatro etapas permiten diferenciar los tres géneros principales de culícidos (tabla 82-5), y los estudiamos conjuntamente (fig. 82-11).

Huevos. Son menores de 1 mm de longitud. La hembra los pone durante la noche, en número de 100 ó más en aguas, preferentemente, estancadas y con materia orgánica, vegetación o sin éstas. Los huevos de *Anopheles* se encuentran en el agua aislados o unidos por sus polos, y poseen unos sacos de aire o flotadores laterales, que les impiden hundirse. Los de *Aedes* también se encuentran aislados con estructura poligonal y no poseen flotadores. La hembra del *Culex* los coloca aglutinados formando una «navecilla» o balsa flotante, compuesta por 100 ó más huevos, que se mantienen a flote de esta manera. Estos huevos maduran en 2 a 7 días, según las condiciones de humedad y temperatura. Algunas especies invernan en estadio de huevo.

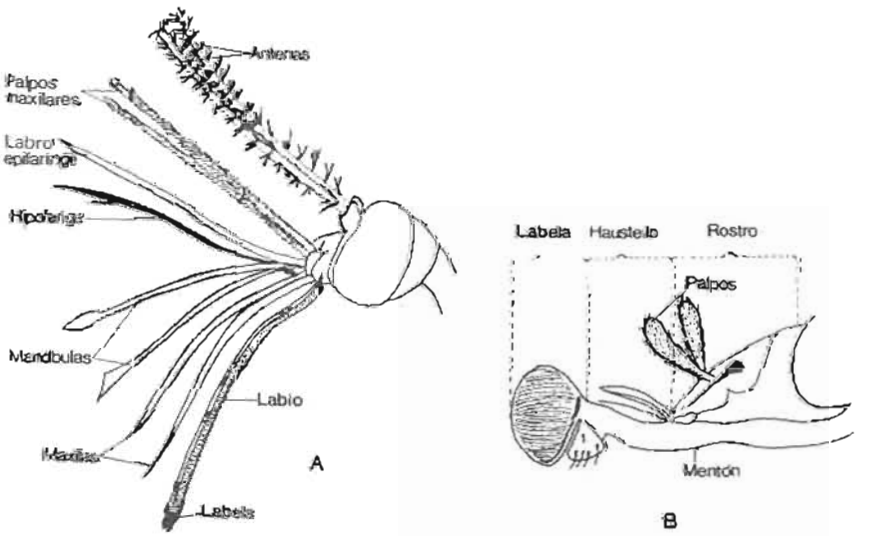


Fig. 82-10. Partes bucales de un díptero. A) Culícido hembra. B) Mosca.

Tabla 82-5. Principales insectos de interés médico y enfermedades que vehiculan. Los tres subórdenes de Diptera, marcados con 1, 2 y 3, corresponden, respectivamente, a Nematocera, Cyclorrhapha y Brachicera

Clase	Orden		Familia	Subfamilia	Género	Especie	Enfermedades transmitidas
Insecta	*Diptera*	1	*Culicidae*	*Anophelinae*	*Anopheles*	*A. maculipennis*	Paludismo
					Culex	*C. fatigans*	Filariasis, encefalitis
				Culicinae	*Aedes*	*A. aegypti*	Fiebre amarilla, filariasis, dengue, encefalitis
					Mansonia	*M. titillans*	Filariasis, encefalitis
			Psychodidae	*Phlebotominae*	*Phlebotomus*	*Ph. papatasii*	Leishmaniosis, bartonelosis
			Ceratopogonidae		*Culicoides*	*C. austeni*	Filariasis
			Simulidae		*Simulium*	*S. damnosum*	Oncocercosis
		2	*Muscidae*	*Muscinae*	*Musca*	*M. domestica*	Sólo transmisión pasiva
					Stomoxys	*S. calcitrans*	Carbunco
			Glossinidae	*Glossiinae*	*Glossina*	*G. palpalis*	Tripanosomiasis africana
			Otras				Miasis
		3	*Tabanidae*		*Chrysops*	*C. dimidiata*	Loasis
			Cimicidae		*Cimex*	*C. lectularius*	
	Heteroptera		*Reduvidae*	*Triatominae*	*Triatoma*	*T. infestans*	Enfermedad de Chagas
			Pulicidae		*Pulex*	*P. irritans*	Peste
	Siphonaptera		*Ceratophyllidae*		*Xenopsylla*	*X. cheopis*	Peste, tifus murino, teniasis
			Tungidae		*Nosopsyllus*	*C. fasciatus*	Tifus murino, teniasis
					Tunga	*T. penetrans*	Dermatitis
	Anoplura		*Pediculidae*		*Pediculus*	*P. humanus*	Tifus exantemático, F. recurrente
					Phthirus	*P. pubis*	Pitiriasis

Larvas. La eclosión tiene lugar en el agua y da lugar a una larva de 8 mm, que consta de cabeza, tórax y abdomen, carece de patas y posee una serie de pelos palmeados o floladores, de interés taxonómico. La cabeza consta de antenas y un complejo sistema para la alimentación. El abdomen consta de diez segmentos. En el VIII segmento en *Culex* y *Aedes* se origina un sifón, que termina en una placa estigmal, que usa la larva para respirar en la superficie del agua; de esta manera, al subir a respirar con característicos movimientos contráctiles, la larva queda con la cabeza hacia abajo. Las larvas de *Culex* poseen en todos sus segmentos y, marcadamente, en el último más pelos y más largos que las de *Aedes*. *Anopheles* carece de sifón y posee una placa estigmal dorsal con dos orificios espiraculares que se abren en el IX segmento; por ello, las larvas se disponen paralelas a la superficie. Las especies de *Anopheles* se diferencian por los pelos, en sus diferentes localizaciones. Las larvas, tras cuatro mudas sucesivas, en 8 a 10 días, se convierten en pupas.

Pupas. Son muy móviles y con forma de coma: el cefalotórax está abultado, con un par de ojos compuestos y las trompetas respiratorias, y una «cola» de ocho segmentos. Se diferencian entre sí por las trompetas, que son largas y estrechas en *Culex*, oblicuamente truncadas en *Aedes* y cortas en *Anopheles*. Tras 1 a 5 días, la pupa se vuelve inmóvil en la superficie del agua, la cutícula torácica se abre y el insecto adulto emerge, dispuesto a volar, en pocos minutos.

Adultos. Los insectos adultos de los tres géneros se diferencian por las siguientes características. En *Anopheles*, cuando está en reposo, la probóscide está en línea recta con el cuerpo, que forma una línea oblicua con la superficie en que se posa; los palpos en ambos sexos son tan largos como la probóscide, y las alas generalmente están moteadas. *Culex* y *Aedes* se disponen en línea quebrada para picar, los palpos en las hembras son mucho más cortos que la probóscide y no poseen manchas en las alas; *Aedes* posee unas bandas blancas en las patas y el tórax, que recuerdan en éste una lira, y *Culex* no las tiene.

Los adultos poseen unos hábitos, cuyo conocimiento es de gran interés, tanto para comprobar su papel epidemiológico como para emprender con perspectivas de éxito las campañas de desinsectación. Pero estos hábitos son muy diferentes de unas especies a otras y de unas regiones del mundo a otras, por lo que se requiere su estudio en cada caso. Así hay que comprobar las posibilidades de desplazamiento a distancia, la preferencia por el hábitat salvaje, doméstico, urbano o rural, las preferencias para la puesta de huevos, horas más frecuentes de picar (diurna, vespertina o nocturna), preferencia por determinados huéspedes (especies antropófilas por el hombre y zoófilas por mamíferos), etcétera.

Importancia médico-sanitaria: los mosquitos poseen un doble interés. En primer lugar, son insectos molestos, que, al picar las hembras para su alimentación (es necesaria la sangre para la producción de hormona gonadotrópica, imprescindible para la ovulación), inyectan líquido salival que produce eritema, hinchazón y prurito, todos ellos localizados. En algunas personas pueden aparecer síntomas más intensos tipo urticaria y eccema.

Pero el papel fundamental es la transmisión de enfermedades producidas por virus, protozoos y helmintos: *Anophe-*

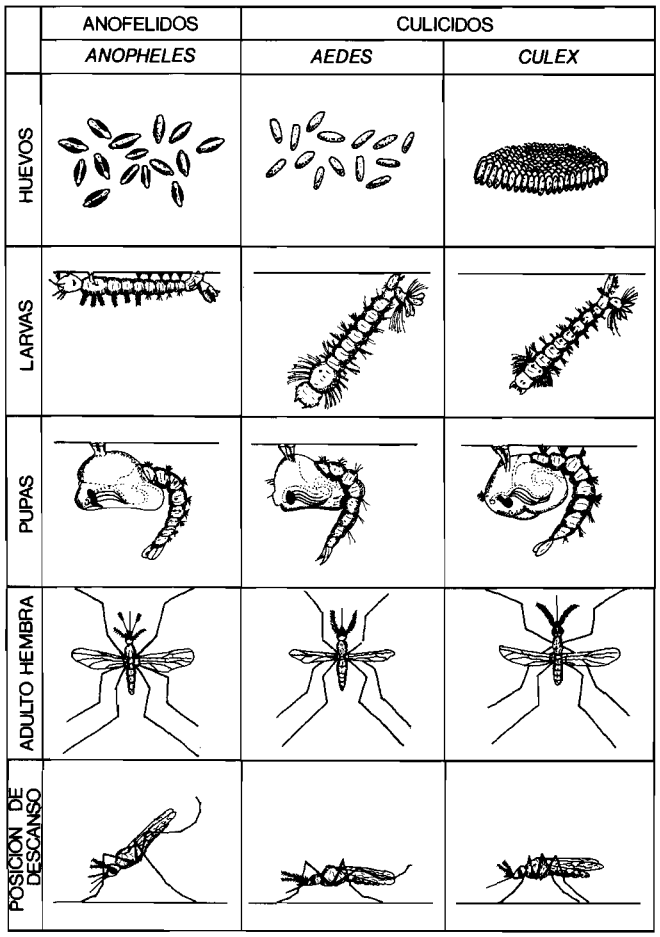


Fig. 82-11. Caracteres diferenciales de los tres principales géneros de *Culicidae* (explicación en el texto.)

les son los únicos transmisores del paludismo humano; aunque cualquier especie de las más de cuatrocientas descritas puede ser infectada experimentalmente, sólo un centenar son los transmisores naturales. Pero especies que son importantes en un país o área, en otra no tienen importancia. En España, las especies descritas como transmisoras son *A. maculipennis, A. labranchiae, A. hispaniola, A. claviger, A. atroparvus*, etc.

Para conocer los transmisores en un área es necesario comprobar el índice de infección en mosquitos hembras capturados e identificados en el área de que se trate. Algunas especies son también transmisoras de filariasis (*W. bancrofti* y *W. malayi*).

Aedes aegypti es el principal transmisor de la fiebre amarilla, aunque también lo pueden ser otras especies del género *Aedes* y *Mansonia, Culex* y *Haemagogus. A. aegypti* es también el principal transmisor de otras arbovirosis como el dengue y diversas encefalitis. *A. polynesyensis* es transmisor, en el sur del Pacífico, de *W. bancrofti.*

El género *Culex (C. pipiens, C. tarsalis)*, de distribución mundial, es transmisor de diversas encefalitis: encefalitis japonesa B, encefalitis de San Luis, encefalomielitis equina, encefalitis de Venezuela, del Nilo, etc. *C. pipiens* es también transmisor de filariasis (*W. bancrofti*). Por último, *Mansonia* transmite fiebre amarilla, y algunas filariasis y encefalitis.

Familia Psychodidae

Los flebotomos «beatillas», mosquitos de letrinas y de arenales, jorobados o papalotillas (México) son unos dípteros muy pequeños, de 1 a 3 mm, que atraviesan fácilmente las telas de alambre usadas como antimosquitos.

Los adultos (fig. 82-12) poseen cuerpo, patas y alas, con gran cantidad de vellosidades, y el tórax incurvado («jorobados»). Las alas, ovales y siempre erectas sobre el tórax, recuerdan las antiguas navajas para flebotomías (*Phlebotomus*). La hembra es la única hematófaga y de hábitos nocturnos. Realiza la puesta en grietas y hendiduras, húmedas y oscuras, ricas en detritos. Los huevos se transforman en larvas y, tras cuatro mudas, dan lugar en 1 mes a pupas, y éstas en 1 a 2 semanas, al insecto adulto.

La picadura es muy pruriginosa y persiste algún tiempo. Las principales especies en nuestro medio son: *Phlebotomus papatasii, P. intermedius* y *P. perniciosus.*

Los flebotomos transmiten las siguientes enfermedades:

1. Leishmaniosis visceral y cutánea, es decir, el kala-azar y el botón de Oriente (v. *Leishmania*). También transmiten la leishmaniosis americana producida por *L. braziliensis.*
2. Fiebre por flebotomos, virosis transmitida por *P. papatasii*, que aparece en países asiáticos y del Mediterráneo.
3. La enfermedad de Carrión, fiebre de Oroya o bartonelosis del noroeste de Sudamérica, que, producida por *Bartonella bacilliformis*, es transmitida por *P. verrucarum* y *P. peruensis* (verruga peruana).

Familia Ceratopogonidae

El género *Culicoides* está constituido por mosquitos muy pequeños, de 0,5 a 5 mm, que viven en zonas pantanosas. Son muy molestos y su picadura es irritante. Transmiten diversas filariasis, como *O. volvulus, M. ozzardi* y *D. perstans*, y algunas virosis.

Familia Simulidae

Los mosquitos negros son dípteros de 3 a 5 mm, que por su coloración negruzca tienen el aspecto de moscas pequeñas (fig. 82-13). Tienen forma jorobada y patas cortas, y entre sus hábitos destacan el que viven en las corrientes, no muy rápidas, de agua y el que la hembra hematófaga pica durante el día, por lo que son muy molestos a los pescadores. Son transmisores de *Onchocerca volvulus.*

Fig. 82-12. Mosquito adulto del género *Phlebotomus.*

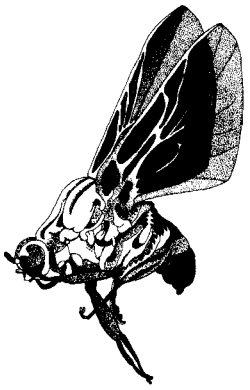


Fig. 82-13. Mosquito adulto del género *Simulium*.

Familia Tabanidae

Dentro ya del suborden *Brachicera*, en esta familia sólo tiene interés como transmisor el género *Chrysops*, cuyas especies son conocidas con el nombre de tábanos, mosca de los manglares, moscas de caballos, ciervos, etc. Poseen un típico abdomen de bandas amarillas y oscuras y las alas claras con una banda oscura (fig. 82-14).

En Africa, las diversas especies *(C. discalis, C. dimidiata)* transmiten una filaria *(Loa loa)* y la tularemia *(Francisella tularensis)*.

Familia Muscidae

El suborden *Cyclorrhapha* comprende 16 familias de las que 5 tienen importancia humana. La principal es *Muscidae*, y en ella destacan los géneros *Musca*, *Stomoxys* y *Glossina*.

Presentan el cuerpo claramente dividido en cabeza, tórax y abdomen. En la cabeza, que posee gran movilidad, se encuentran unos grandes ojos facetados y varios ojos simples. La pieza bucal puede ser de dos tipos fundamentales: chupadora con una probóscide blanda y extensible (que consta de rostro, haustelo y labela [fig. 82-10 B], muy amplia para la succión) o picadora, que es rígida, dura y adaptada para la hematofagia. El tórax está bien desarrollado y el abdomen, cubierto de pelos y con cuatro a nueve segmentos.

El ciclo evolutivo es de una metamorfosis completa. Los huevos, de forma alargada y blanquecinos, dan lugar a larvas diferentes según las especies; constan de una extremidad anterior con ganchos afilados o escleridios y de otra posterior, en la que se encuentran los espiráculos posteriores que permiten diferenciar géneros y especies. Estas larvas se desarrollan en criaderos habituales (basura, estiércol) o esporádicos (piel y tejidos), y en un tiempo variable, según las condiciones ambientales, pasan a ninfas o pupas encerradas en un envoltorio quitinoso, que se rompe en el momento de emerger el imago, con el tamaño definitivo del insecto. Algunas especies son vivíparas *(Sarcophaga)*.

Las moscas tienen un interés sanitario por ser vehículos pasivos de infecciones, ser vectores activos o producir enfermedades.

Transmisión pasiva

Numerosas especies de mosca y, sobre todas, la mosca común *(Musca domestica)* transportan mecánicamente, en las almohadillas de las patas, con la pieza bucal o en el cuerpo, las más diversas infecciones producidas por virus (poliomelitis), bacterias (salmonelas, shigelas, coliformes, vibriones, yersinias, clamidias, etc.), parásitos (huevos y quistes de todo tipo) e incluso hongos.

La mosca casera, de 6-7 mm (fig. 82-15), es de color gris oscuro, y la hembra deposita, en sus 30 días de vida, más de 2.000 huevos en puestas de unos 100 cada vez. En los basureros y otros criaderos naturales, el huevo, en forma de banana blanca de 1 mm, evoluciona a larva vermiforme muy voraz, pupa e imago en 8 a 20 días. Son extraordinariamente prolíficas. Destacan su olfato, que hace que le atraiga cualquier tipo de olores (alimentos, heces, etc.), y su amplio radio de vuelo que alcanza los 5 km en vuelo directo o mucho más en vuelo por etapas. Estas dos características definen el peligro de contaminación por las moscas. También es notable la capacidad de regurgitación que tienen de la comida ingerida, lo que favorece la transmisión microbiana.

Vectores activos

Las moscas hematófagas principales pertenecen a dos géneros: *Stomoxys* y *Glossina*. Aunque este último es considerado en familia aparte de las moscas (familia *Glossinidae*), lo citamos aquí.

Stomoxys calcitrans es una mosca cosmopolita, conocida como mosca de los establos o mosca brava. Es un poco mayor que la casera, de la que se diferencia por su probóscide, dura y en forma de bayoneta. Con ella ataca a los animales domésticos y al hombre, en el que produce una picadura dolorosa, que deja señal rojiza. Su costumbre de abandonar un animal para alimentarse de otro la hace transmisora, entre aquéllos, de diversas enfermedades, como tripa-

Fig. 82-14. *Chrysops dimidiata*, hembra adulta.

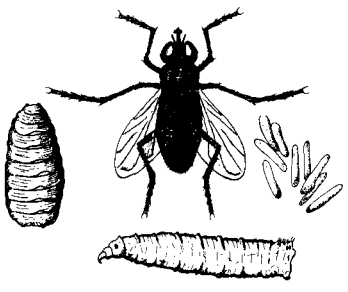


Fig. 82-15. *Musca domestica*, adulto, huevos, larva y pupa.

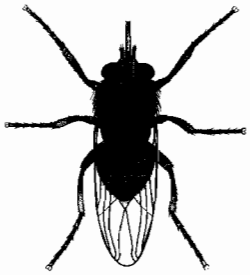


Fig. 82-16. Mosca *Glossina*, adulto.

nosomiasis, anemia infecciosa equina, etc. También, por el mecanismo de «comida interrumpida», el hombre podría contagiarse de carbunco, tripanosomiasis, etc.

Existen más de 20 especies del género *Glossina* (mosca tse-tsé) (fig. 82-16), de las que algunas están implicadas en la transmisión de la tripanosomiasis africana. Son moscas pardas o negras, de 8 a 10 mm, que se diferencian por su trompa dura y horizontal, pliegan sus alas como unas tijeras y poseen en las alas unas venas que dibujan un hacha de carnicero. Hay dos tipos de especies: las de ríos y lagos del oeste y centro de Africa, especie principal *G. palpalis*, y las de arbustos y bosques de Africa Oriental, especie principal *G. morsitans*. Tanto las hembras como los machos son hematófagos y son atraídos por ropas oscuras o negras y objetos en movimiento. *G. palpalis* es el principal transmisor de *Trypanosoma gambiense* y *G. morsitans* lo es de *T. rhodesiense*, aunque también son transmisores *G. tachinoides*, *G. swynnertoni*, *G. pallidipes*, etc.

Miasis

Es la invasión de los tejidos y órganos de los mamíferos por larvas de dípteros. Hay diversas familias de dípteros, en que de una forma específica o accidental la hembra deposita sus huevos en la piel, heridas, mucosas o cavidades y da lugar a larvas que son capaces de perforar los tejidos con sus ganchos y a un cuadro necrótico local y de lesiones perforantes.

Un grupo de dípteros en forma obligada de su ciclo vital necesitan pasar la fase larvaria en los animales o el hombre. Esta parasitación se denomina miasis verdadera o específica. Se trata de familias distintas a la *Muscidae*, aunque se utiliza el nombre de «moscas»; así destacan los géneros *Chrysomyia*, *Dermatobia*, *Gasterophilus*, *Hypoderma*, *Oestrus*, *Callitroga*, etc. Las hembras depositan sus huevos en la piel, heridas, mucosa nasal y conjuntiva (*Oestrus*) de los animales y accidentalmente del hombre. Causan lesiones destructivas locales e infecciones bacterianas asociadas.

Otras familias de dípteros poseen larvas necrobiontófagas, es decir, se alimentan de animales muertos; es la fauna cadavérica. De una forma accidental y sobre todo en heridas o lesiones descuidadas higiénicamente, depositan los huevos en mamíferos vivos. Es una miasis semiespecífica. Así tenemos los géneros *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Phaenicia*, etc. Son larvas muy invasoras y dan lesiones espectaculares.

Por último, hay especies que normalmente depositan sus huevos en estercoleros y basureros, y ocasionalmente pueden hacerlo en lesiones o heridas sucias del hombre. Los géneros *Musca*, *Stomoxys*, *Fannia*, etc., se encuentran en estas miasis accidentales.

Las larvas de todos estos insectos tienen una estructura común (fig. 82-17), en la que destacan los ganchos en la extremidad anterior y los espiráculos anteriores y posteriores, sobre todo éstos, que permiten la identificación.

La clínica varía según la localización: lesiones sucias, anfractuosas y con larvas muy móviles en la piel, que pueden perforarla o no. Cuando se trata de los senos o las fontanelas en recién nacidos, el cuadro es más grave y puede ser mortal. Existe una miasis intestinal por ingestión de alimentos contaminados y otra uretral por ascenso de las larvas; en ambos casos, los síntomas son poco específicos.

Una vez comprobada la presencia de larvas, éstas deben ser extirpadas bajo anestesia local, con el cuidado de no romperlas para su estudio y diagnóstico posterior, aparte el peligro de infección sobreañadida.

Fig. 82-17. Larva de *Muscidae*: *e.a.*, espiráculos anteriores; *e.p.*, espiráculos posteriores; *g.b.*, ganchos bucales; *t.a.*, tubérculo anal.

HETEROPTERA

Los hemípteros o chinches se caracterizan por tener una probóscide articulada, picadora y chupadora, que se flexiona bajo la cabeza cuando está en reposo. Al disponerse a picar, la chinche cambia la posición de la probóscide de horizontal a vertical e introduce las mandíbulas y maxilas dentro de la piel o en las plantas. El abdomen es grande, aplanado o no, y consta de nueve segmentos. Muchas especies poseen dos pares de alas, mientras que otras sólo vestigios de ambas. Existen especies fitófagas y hematófagas. Entre éstas se encuentran dos familias de interés médico: *Cimicidae* o chinches de cama y *Reduvidae* o triatomas.

Familia Cimicidae

Son insectos ovoides, de color caoba, cuerpo aplanado (5 × 3 mm) y ancho abdomen; no poseen alas (fig. 82-18 A). Su ciclo es completo, de unas 4 a 5 semanas, y viven en grietas de las paredes, muebles de madera, empapelado de las paredes, etc. Emiten olor característico. Son de hábito nocturno y producen en el sitio de la picadura una lesión papulosa urticarial, de intensidad variable.

Se han descrito dos especies principales: *C. lectularius*, propia de Europa y zonas templadas, y *C. hemipterus*, típica de países tropicales. Aunque se ha comprobado experimentalmente la posibilidad de transmisión de diferentes enfermedades, no hay pruebas de que sean vectores naturales de ningún agente patógeno.

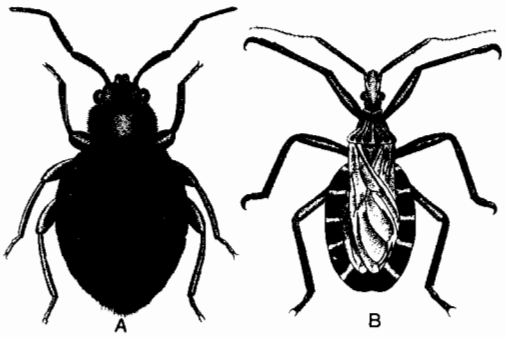


Fig. 82-18. *Heteroptera.* A) Hembra adulta de *Cimex lectularius.* B) Macho adulto de *Triatoma.*

Familia Reduvidae

Conocidos como triatomas, vinchucas, chinches hociconas, barbeiros, *kissing-bugs* o por otros muchos nombres, son de mayor tamaño que los anteriores, poseen dos pares de alas bien desarrolladas (algunas son ápteras) y ocelos detrás de los ojos, y su cuerpo es más alargado; el abdomen es amplio y posee manchas coloreadas (rojas o amarillas) de interés taxonómico (fig. 82-18 B). Viven en espacios abiertos, aunque varias especies han demostrado ser estrictamente domiciliarias. Se esconden durante el día y pican por la noche; defecan durante la alimentación, lo que es de gran interés en la transmisión de tripanosomas. Es un insecto propio de América, sobre todo, Central y del Sur.

La picadura es pruriginosa y tarda varios días en desaparecer; la cara y el cuello son lugares preferidos para poder desplegar la probóscide (chinche besucona).

De los diversos géneros descritos destaca el más numeroso: *Triatoma* (*T. infestans, T. dimidiata, T. sordida, T. spinolai,* etc.). *Rhodnius prolixus* es de gran importancia en Colombia y Venezuela. Todas estas especies son transmisoras de la enfermedad de Chagas, pues en el intestino medio y posterior del insecto se reproducen los promastigotes de *Trypanosoma cruzi,* que contaminarán la microherida de la picadura, mediante la defecación concomitante; el rascado posterior se encarga de la introducción de las formas infectantes.

SIPHONAPTERA

Las pulgas son ectoparásitos que necesitan la ingestión periódica de sangre y por ello están dotadas de cierta inespecificidad para el huésped. Son insectos de 2-3 mm, de color oscuro, con cuerpo comprimido lateralmente, sin alas y con largas patas que les permiten una gran capacidad para el salto.

La cabeza es pequeña, con antenas, ojos y órganos bucales pares (palpos maxilares, palpos labiales, mandíbulas y maxilas) e impar (labro-epifaringe). Como características importantes se encuentra, detrás de la mejilla o gena un peine de color oscuro (peine genal) y, en el borde posterior de la cubierta dorsal del I segmento torácico, el peine pronotal (fig. 82-19). Pueden estar ausentes ambos peines, o ctenidios, o sólo uno de ellos, lo que permite el diagnóstico diferencial de las distintas pulgas (tabla 82-6).

El tórax tiene bien marcados los tres segmentos torácicos, de los que salen las patas que constan de cadera o coxa, trocánter, fémur, tibia, tarso con cinco artejos y un par de uñas curvas. Las patas posteriores son más largas y adapta-

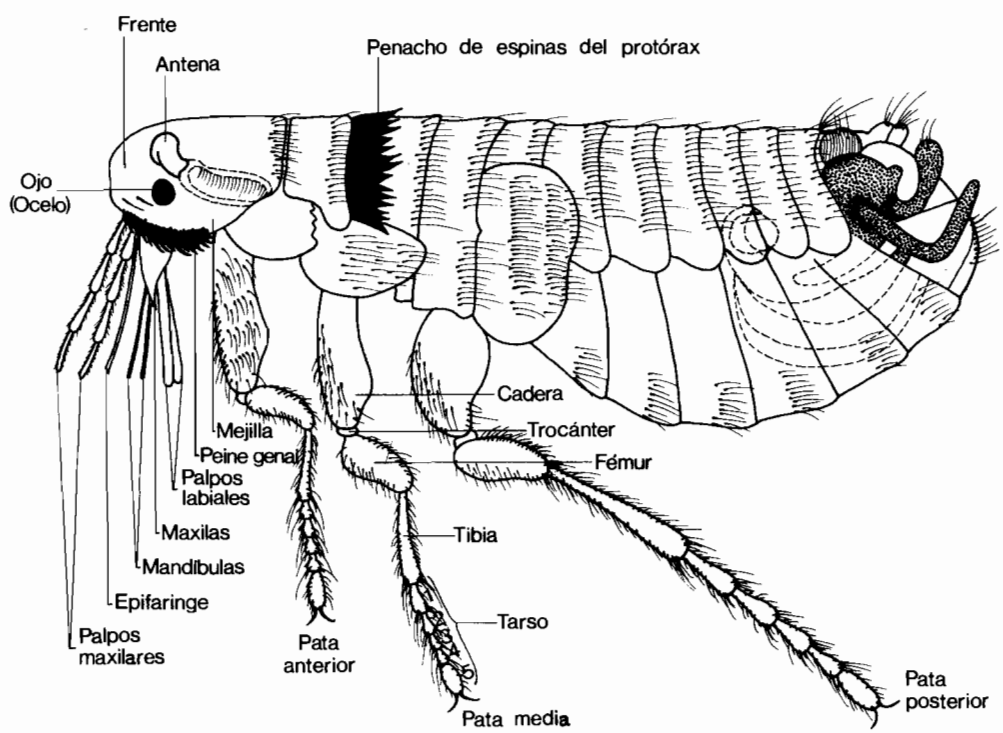


Fig. 82-19. Anatomía general de una pulga macho adulta.

Tabla 82-6. Diferencias entre algunos géneros de pulgas de importancia médica

Sin peines
Mesopleura pequeña y cerdas prepigidiales cortas: *Pulex irritans*
Mesopleura ancha y cerdas prepigidiales: *Xenopsylla cheopis*
Con peine sobre el protórax (pronotal): *Nosopsyllus fasciatus*
Con peines pronotal y genal
Diente delantero del peine genal más corto que el segundo: *Ctenocephalides canis*
Diente delantero del peine genal similar al segundo: *Ctenocephalides felis*

das para saltar. Es característica en el aparato digestivo, entre el esófago y el estómago, la existencia de un corto proventrículo muscular provisto en sus células epiteliales de unos largos procesos quitinosos, como espinas hacia atrás, que actúan de filtro del contenido gástrico.

El ciclo de las pulgas es de una metamorfosis completa, que realizan fuera del huésped, en el ambiente. La hembra deposita los huevos en lugares húmedos, templados y oscuros, como las rendijas, rincones, etc. Las larvas y ninfas evolucionan en un período de hasta 1 año y se alimentan de desechos nutritivos. Sin embargo, los adultos viven en el ambiente y pican al huésped más cercano de sangre caliente, pues necesita ésta para la supervivencia y fertilidad. De ahí que infecten a roedores, perros, gatos, etc., y al hombre.

De las 17 familias e innumerables especies, las de mayor interés clínico son: *Pulex irritans* o pulga del hombre; *Xenopsylla cheopis* de la rata; *Ctenocephalides canis* del perro, y *C. felis* del gato (tabla 82-6). La nigua da un cuadro específico.

Las pulgas tienen interés sanitario como insectos molestos por su picadura, por producir la tungiasis o por ser vectores de enfermedades. La picadura de la pulga, casi siempre nocturna, causa una irritación instantánea, con pápula rosácea pruriginosa y casi nunca única.

La tungiasis es una parasitación por *Tunga penetrans* o nigua, que es una pulga pequeña, de 1 mm, típica de las regiones tropicales de América. El hombre se infesta por el contacto de la piel desnuda con suelos arenosos y secos; aparece, sobre todo, en los pies, una inflamación dolorosa como un furúnculo, donde se encuentra la hembra, que se alimenta de sangre y elimina huevos al exterior. La lesión se transforma en una úlcera dolorosa y puede infectarse e incluso llevar a la muerte.

Las pulgas desempeñan un importante papel como vectores activos en la peste y el tifus murino. En el ciclo epidemiológico de la peste, producida por *Yersinia pestis*, intervienen pulgas tanto en el mantenimiento de la peste selvática, transmitida entre roedores por *Xenopsilla*, como en la forma bubónica doméstica o urbana transmitida por *Xenopsilla* y *Pulex*. Estas pulgas adquieren las yersinias picando a un animal enfermo que las posee en la sangre; los bacilos se multiplican en gran cantidad en el proventrículo hasta bloquearlo parcial o totalmente. Al sentir hambre y picar a un nuevo huésped, se produce una intensa succión que lleva a un reflujo del contenido del proventrículo, con la consiguiente inoculación de bacilos al huésped; además, como la obstrucción no permite al insecto alimentarse, éste tiene cada vez más hambre y pica a más huéspedes, con la consiguiente difusión de la enfermedad, hasta que muere.

El tifus murino o endémico, producido por *Rickettsia typhi*, es transmitido de rata a rata y de rata a hombre por *X. cheopis* y *Nosopsyllus fasciatus*. Por último, *Ctenocephalides canis* y *felis* son agentes transmisores entre perros y gatos del cestodo *Dipylidium caninum* y entre ratas de *Hymenolepis diminuta*.

ANOPLURA

Los piojos son insectos pequeños, de 1 a 3 mm, sin alas, con el cuerpo aplanado en sentido dorsoventral y tres pares de patas que terminan en una cuña dorsal muy aparente. Dos géneros principales, cada uno con una sola especie, son de interés humano: *Pediculus humanus* y *Phthirus pubis*. El primero de ellos presenta dos variedades: *P. humanus* var. *capitis* o piojo de la cabeza y *P. humanus* var. *corporis* o *vestimentis* o piojo del cuerpo (fig. 82-20).

P. humanus tiene un color blanquecino y de 2 a 3 mm de longitud. Su cabeza es cuadrangular y alargada, con antenas de 3 a 5 segmentos y dos ojos simples; el aparato bucal es muy complejo, oculto en reposo y con un rostelo dentado, que permite la sujeción a la piel del huésped y en cuyo interior se encuentran los órganos perforadores y la hipofaringe. Los tres segmentos torácicos están unidos y de ellos salen las seis patas, en las que destaca una uña en forma de gancho, que se articula con el apéndice de la tibia para formar una tenaza que permite la sujeción al pelo o vestidos. El abdomen, aplanado dorsoventralmente como todo el insecto, es ovoide y voluminoso; termina de forma puntiaguda en los machos y en V invertida en las hembras. La variedad *corporis* es más fuerte que la *capitis*.

La hembra fertilizada deposita sus huevos o «liendres» blanquecinos, operculados y de 0,6-0,8 mm, en la raíz de los pelos de la cabeza, axilas o pecho, o en las fibras de la ropa y costuras (fig. 82-21 B); a los 5-15 días dan lugar a una ninfa hematófaga, que sufrirá tres mudas, hasta llegar a adulta en 2-3 semanas.

Tres caracteres importantes de estos piojos son de destacar: La especificidad del huésped que muestran, ya que piojos de otros animales no afectan al hombre y viceversa (contrariamente de lo que sucedía en las pulgas). En segundo lugar su poca capacidad de ayuno, que exige estar alimentándose casi de forma continua, por lo que viven sobre el huésped y sus vestidos (al contrario de las pulgas que viven y realizan su ciclo en el ambiente). Además, los piojos resisten mal los cambios bruscos de temperatura, por lo que

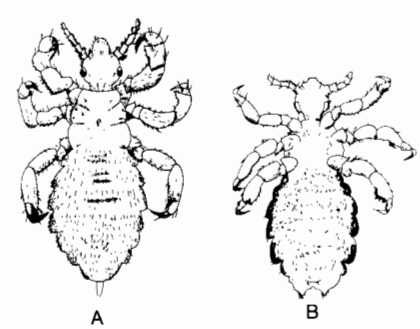


Fig. 82-20. *Pediculus humanus* adulto, vista dorsal. A) Macho. B) Hembra.

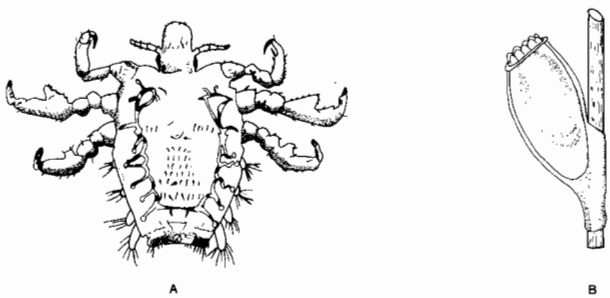


Fig. 82-21. A) *Phthirus pubis* adulto. B) Huevos de piojo, operculados (liendres).

huyen de los enfermos con fiebre alta y de los cadáveres e infestan a las personas cercanas.

Phthirus pubis, o «ladilla» o *crab-louse*, recibe aquel nombre por su localización en los pelos del área genital, aunque tambien puede aparecer en el bigote, axilas y otras zonas pilosas. Se diferencia del piojo humano en el tamaño, pues es menor (0,8-1,5 mm) y sobre todo más corto, y tiene unas garras grandes y pesadas, como un cangrejo (fig. 82-21 A). Su ciclo es similar y permanecen adheridos al mismo lugar, durante varios días, chupando sangre de vez en cuando.

Desde el punto de vista médico-sanitario, los piojos son de importancia por la parasitación (pediculosis, ptiriasis) y ser vectores activos de enfermedades.

La pediculosis se debe a la irritación provocada por la gota de saliva que el insecto deposita en la microherida de la picadura. Esto da lugar a una pápula rojiza muy pruriginosa. La irritación es tal que puede llegar a una dermatitis, con el peligro de infección bacteriana secundaria a las lesiones del rascado. En la pediculosis del cuero cabelludo, frecuente en colegios, escuelas, guarderías, etc., los parásitos aparecen con más frecuencia en la zona occipital y retroauricular, donde se buscará el parásito o las liendres. En la pediculosis corporal, los parásitos deben ser buscados, más que en el individuo, en las costuras y ropas que están en contacto directo con la piel. Cabe destacar que, así como la pediculosis corporal está en franca disminución, al elevarse el nivel socioeconómico de las poblaciones, la localización en la cabellera se presenta en países con alto nivel económico y, según todos los autores, en constante aumento en los niños de todas las edades, que se contagian principalmente en escuelas y guarderías.

La ptiriasis da el mismo cuadro clínico, pero de localización pubiana. La demostración del parásito puede ser más difícil por su menor tamaño y requiere el uso de la lupa. Es una enfermedad de transmisión sexual o venérea, y se encuentra, como todas ellas en aumento continuo, dentro de las poblaciones con promiscuidad sexual.

P. humanus var. *corporis* es vector del tifus exantemático epidémico, la fiebre de las trincheras y la fiebre recurrente epidémica. En las dos primeras rickettsiosis, el piojo se infecta al picar a un sujeto con *R. prowazeckii* o *R. quintana*, respectivamente, en su sangre. Estas se multiplican en las células epiteliales del intestino medio del piojo, lisándolas y liberando gran cantidad de rickettsias que salen con las heces; el insecto muere en los 12 días siguientes de haber adquirido la infección y es infectante a partir de las 48 horas de ésta. El hombre puede infectarse a partir del piojo por seis mecanismos diferentes: depósito de las heces sobre la piel rascada y dañada, aplastamiento del piojo sobre ésta, inyección de saliva infectada, dedos contaminados con heces a través de la vía conjuntival o digestiva, inhalación de rickettsias con el aire. En el caso de la fiebre recurrente, *Borrelia recurrentis* se multiplica en todo el hemocele del piojo, y la transmisión a un sujeto susceptible no se realiza por picadura o deyecciones, sino por el aplastamiento del piojo sobre las lesiones producidas por el rascado de la piel.

El piojo de las ratas, *Poliplax spinulosa*, parece encontrarse relacionado con el ciclo epidemiológico del tifus murino, entre estos roedores.

En los casos de pediculosis del cabello, es importante el uso de lociones insecticidas, seguidas de lavado con champú también insecticida, y aclarado final con agua o agua y vinagre, que libra las liendres del pelo. Se debe vigilar la posibilidad de reinfestación e impedir el uso de utensilios comunes en las colectividades contaminadas.

OTROS INSECTOS DE INTERES

Las cucarachas (Orden *Blattaria*) son insectos grandes (de 13 a 40 mm), más corredores que voladores, omnívoros y verdaderos fósiles vivientes de la era carbonífera (hace 250 millones de años), lo que demuestra su gran poder de adaptación. De las 3.500 especies descritas, destacan, en nuestro medio, la cucaracha «rubia», o *Blatella germanica*, y la «negra», o *Periplaneta americana*. Poseen largas antenas y alas muy bien desarrolladas (fig. 82-22). La primera es de menor tamaño (10-15 mm) que la americana (35-40 mm). Ambas son muy voraces y muestran gran predilección por los alimentos hidrocarbonados. De hábitos nocturnos, poseen una metamorfosis simple. Su papel en la transmisión de enfermedades es difícil de valorar. Son huéspedes naturales en el ciclo evolutivo de *Hymenolepis nana* y otros helmintos. Como vectores mecánicos se han aislado en ellas gran cantidad de bacterias (*Salmonella, Shigella, Vibrio, Yersinia, E. coli*, etc.), virus (polio, *Coxsackie*, hepatitis A), hongos (*Aspergillus*), protozoos (*Entamoeba, Giardia*, etc.) y helmintos (*Taenia, Ascaris, Enterobius, Ancylostoma*, etc.).

Pueden ser graves las picaduras de diversos *Hymenoptera*, como abejas, avispas y hormigas, que realizan mediante un aguijón, con el que inyectan venenos específicos. Los escarabajos (*Coleoptera*) de ciertas especies poseen en sus líquidos corporales principios vesicantes o irritantes, que ejercitan su acción al ponerse en contacto con la piel. Por

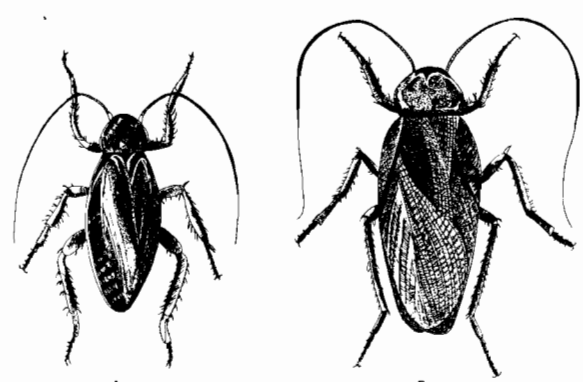


Fig. 82-22. Ortópteros: cucarachas adultas. A) *Blatella* hembra. B) *Periplaneta* macho.

último, ciertas familias de polillas y mariposas (orden *Lepidoptera)* producen dermatitis urticariante, debido a los pelos ponzoñosos de sus larvas. Algunas de ellas son muy frecuentes en nuestro medio, como la procesionaria del pino *(Thaumetopoea pinivora).*

BIBLIOGRAFIA

Brown, H. W., y Neva, F. A.: Basic Clinical Parasitology, 5.ª ed. Appleton Century-Crofts, Norwalk, 1983.

Cheng, T. C.: Parasitología General. AC, Madrid, 1978.

Faust, E. C.; Russel, P. F., y Jung, R. C.: Parasitología Clínica. Salvat Editores, Barcelona, 1974.

Markell, E. K.; Voge, M.: Medical Parasitology. W. B. Saunders, Philadelphia, 1981.

Noble, E. R., y Noble, G. A.: Parasitology, 4.ª ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1976.

Orkin, M.; Malbach, H. J.: Escabiosis. Tiempos médicos, 188, 97-106, 1981.

Piédrola, G., y Amaro, J.: Desinsectación. En Piédrola, G., y cols. (dirs.): Medicina preventiva y social, 7.ª ed. Amaro, Madrid, 1983.

Smith, K. G. V.: Insects and other arthropods of medical importance. The Trustees of British Museum, London, 1973.

Indice alfabético de materias

Los números de página seguidos de la letra «t» remiten a tabla.

A

Absidia, 792.
Absorción aglutininas, 274.
Ac Mc, 254.
Acanthomoeba, 815.
Acarina, 894-897.
Acaros, 894-897.
Acido clavulánico, 138.
— nucleico, 583.
Acido-alcohol-resistentes, 29.
Acidos nucleicos, síntesis, bloqueo, 127.
Acinetobacter, 358t, 481t, 484.
— *calcoaceticus*, 484t.
Actinomicosis, 503.
Actinomyces, 502-505.
— *israelii*, 502.
ACV, 635.
Acholeplasma, 552.
Adenitis mesentérica, 454.
Adenoviridae, 636, 723t.
Adenovirus, 636-640, 724, 725.
— hemaglutinación, 638.
Adherencia bacteriana, 164-170.
Adición bases moleculares, 91.
ADN extracromosómico, 41-46.
— — propiedades físicas y funcionales, 43.
— recombinante, tecnología, 97.
ADN-polimerasa, 708.
— anticuerpo, 708.
Adyuvantes antigénicos, 212.
Aedes, 893t, 901.
Aeromonas, 463, 481t
Afinidad sistema Ag-Ac, 267.
Agentes físicos, 107-111.
— mecánicos, 110-111.
— químicos, 111-116.
Aglutinación cruzada, 274.
— directa, 274.
— pasiva, 275.
— reacción, 273-276.
Aglutininas, absorción, 274.
Alcaligenes, 481t, 484, 492t.
Alcohol, 113.
Algas, 14
Alkaligenes spp., 484t.
Aloantígenos, 209.
Alotipos Ig, 246.
— — Am, 246.
— — Gm, 246.
— — Km, 246.
Alphaherpesvirinae, 628.
Alphavirus, 657.
Amantadina, 618.
Amastigote, 819.
Amebiasis, 812-814.
Amidinopenicilina, 136.
Amikacina, 139t.
α-Amino-bencilpenicilina, 135.
Aminociclitoles, 138-142.
Aminoglicósidos, 139-142.
— efectos secundarios, 141t.
— indicaciones clínicas, 141t.
Aminosidina, 139t.
Amoxicilina, 135.
Ampicilina, 135.
Anabolismo bacteriano, 75.
— procesos, productos resultantes, 75.
Anaerobios no esporulados, 403-412.
Anafilaxia, 282-286.
— experimental, 285.
— humana, 285.
Anafilotoxina, 263.
Anaplasmataceae, 565.
Ancylostoma braziliensi, 884.
— *canicum*, 884.
— *duodenale*, 881.
ANEB, 634.
Anfotericina B, 151t, 777.
Anopheles, 834, 841, 893t, 901.
Anoplura, 906-907.
Anoxyphotobacteria, 20.
Antibióticos β-lactámicos, 133.
— valoración, 132-133.
Anticuerpos, 239.
— heterogeneidad, 250.
— monoclonales, 253-255, 268.
— no aglutinantes, 275.
— respuesta primaria, 250.
— — secundaria, 250.
— variabilidad, 250.
Antifúngicos, 151.
Antigenicidad, 206, 213.
— Ig, 245-247.
Antígenos, 206-218.
— bacterias, 217.
— — gramanegativas, 218.
— — grampositivas, 218.
— capsular, enterobacterias, 414.
— células, 214.
— complejo mayor histocompatibilidad, 214.
— conjugados, 207.
— constitutivos, 217.
— dosis, 212.
— — intervalo, 212.
— — número, 212.
— eritrocitarios, 214.
— específicos especie, 214.
— — órgano, 214.
— — tejido, 214.
— F, enterobacterias, 414.
— fimbrias, enterobacterias, 414.
— flagelar, enterobacterias, 414.
— forma administración, 212.
— H, 51.
— — enterobacterias, 414.
Antígenos H, salmonelas, 422.
— K, enterobacterias, 414.
— métodos estudio, 207-208.
— molécula, accesibilidad, 211.
— — agregación, 211.
— — carga, 211.
— — complejidad, 211
— — conformación, 211.
— — degradabilidad, 211.
— — rigidez, 211.
— naturales, 214-218.
— — estudio, 207.
— naturaleza química, 210.
— O, enterobacterias, 414.
— — salmonelas, 422.
— secretados, 217.
— sintéticos, 208.
— somáticos, enterobacterias, 414.
— sistema ABO, 214.
— tamaño, 210.
— tejidos, 214.
— Vi, salmonelas, 422.
— vía administración, 212.
— víricos, 599-600.
Antimicrobianos, 120-152.
— bases utilización clínica, 129, 130, 131, 132.
— espectro amplio, 121.
— — corto, 121.
— — menos amplio, 121.
— mecanismos acción, 123-127.
Antiséptico, 111.
Antitoxina diftérica, 372.
Antrax, 336.
Ara A, 619.
— C, 619.
Arachnia, 403.
Arachnida 894-898.
Araneida, 897.
Arbovirus, 657-665.
Archaeobacteria, 21.
Arenavirus, 666-668.
Argasidae, 893t, 897.
Artrópodos, 891-908.
— contagio, 324.
— — vectores activos, 342.
— — — pasivos, 324.
Ascaris lumbricoides, 878.
Ascomycotina, 751.
Aspergillus, 738, 788-792.
Astrovirus, 655.
Atopia, 286.
Autoantígenos, 209.
Autorradiografía, 57.
— forma, 57.
— tamaño, 59.
Azlocilina, 136.
Aztreonam, 138.

B

Bacilos gramnegativos no fermentadores, 483 485.
Bacillus, 381-386.
— *anthracis*, 179, 180t, 381-386.
— *cereus*, 180t, 181, 386.
— *fragilis*, 158.
Bacitracina, 142t, 143.
Bacterias, 17.
— acción calor, 107.
— — frío, 108.
— adherencia, 164-170.
— anabolismo, 75.
— autotrofas, 70.
— capacidad lesional, 178-185.
— cápsula, 47-48.
— citoplasma, 32-33.
— clasificación, 100.
— colonias, 67.
— crecimiento, 62-68.
— división, 60-62.
— esporo, 52-54.
— estructura, 25-55.
— examen fresco, 56.
— fermentación, 73.
— filogenia, 100.
— fimbrias, 51.
— fisiología, 69-79.
— flagelos, 48-51.
— genética, 89-99.
— glicocálix, 48.
— gramnegativas, 18.
— — antígenos, 218.
— grampositivas, 18.
— — antígenos, 218.
— heterotrofas, 70.
— identificación, 100.
— — microsistemas, 78.
— medios cultivo, 76-78.
— metabolismo, 71-76.
— multiplicación, 172-173.
— mutaciones, 89-92.
— nomenclatura, 100, 104-106.
— núcleo, 35-41.
— nutrición, 69-71.
— penetración, 171-172.
— pigmentos, 76.
— quimiolitotrofas, 69.
— quimioorganotrofas, 70.
— quimiotrofas, 69.
— relación oxígeno, 74.
— residentes, 154.
— respiración, 72.
— sin pared celular, 18, 30.
— taxonomía, 100.
— tinción, 33-34, 56.
— transeúntes, 154.
— transferencia genética, 92-96.
— variaciones fenotípicas, 89.
Bacterias-huésped, relación, 153-201.
Bactericidas, 121.
Bacteriocinas, 76.
— relación fagos, 87.
Bacteriófago, 80-88.
— ciclo lisogénico, 85.
— — lítico, 82.
— — productivo, 82.
— — reductivo, 85.
— composición química, 81.
— estructura, 88.
— — antigénica, 82.
— fenómenos transferencia genética, 87.
— genética, 87.
— liberación, 84.
— morfología, 80.
— multiplicación, fase eclipse, 83.
— — — maduración, 83.
— penetración, 83.
Bacteriostáticos, 121.
Bacteroides, 157, 158, 403.
— grupo *fragilis*, 404.
Balantidium coli, 815-817.
Bartonella bacilliformis, 565.
Bartonellaceae, 565.
Basidiomycotina, 751.
Basófilos 227.
Bazo, 234.
Bencilpenicilina, 134.
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 106.
Betaherpesvirinae, 628.
Betapropiolactona, 115.
Bifidobacterium, 403.
Bilharzia, 863.
Biomphalaria, 859t, 865.
Blastomyces dermatitidis, 774.
Blenorragia, 365.
Bloqueo síntesis ácidos nucleicos, 127.
Blotting, 280.
Boca, flora normal, 156.
Bordetella, 489-493, 492t.
— *bronchiseptica*, 490t, 493.
— *parapertussis*, 490t, 493.
— *pertussis*, 166t, 180t, 181, 490-493.
Borrelia, 534, 542-543.
— *burgdorferi*, 543, 897.
— *recurrentis*, 542.
— transmitida garrapatas, 542.
— — piojos, 542.
Botulismo, 400.
Branhamella, 358t.
Brote holomiántico, 325.
— prosodémico, 326.
Brucela, hemocultivo, 498.
Brucelosis, 498-500.
Brucella, 492t, 495-501.
— *abortus* 172, 496.
— *melitensis*, 496.
— *suis*, 496.
Bulimus, 859t.
Bunyaviridae, 657, 660.
Bursa Fabricio, 230, 231.

C

Cadenas infección, 320-325.
— estructura tridimensional, 245.
— H, 240.
— kappa (κ), 241.
— L, 240.
— lambda (λ), 241.
— ligeras, 240, 241-243.
— — áreas hipervariables, 242.
— — configuración genes, 251.
— — región constante, 242.
— — — variable, 241.
— pesadas, 240, 243-244.
— — áreas hipervariables, 243.
— — configuración genes, 252.
— — región constante, 243.
— — — variable, 243.
Calicivirus, 655.
Calor, acción bacterias, 107.
— húmedo, 106.
— seco, 106.
Calymmatobacterium, 476.
— *granulomatis*, 476.
Campylobacter, 464-466.
— *fetus* ssp. *fetus*, 464.
— *jejuni*, 464.
— *pyloridis*, 464.
Candida, 156, 158, 779-785.
— *albicans*, 738, 779-785.
Capacidad lesional bacterias, 178-185.
Capillaria hepatica, 888.
Capreomicina, 142t.
Cápsula bacteriana, 47-48.
— capacidad antigénica, 48.
— composición química, 47.
— glucídica, 47.
— identificación morfológica, 48.
— peptídica, 48.
— protección, 48.
— — antibióticos, 48.
— — fagos, 48.
Capsulogénesis, 48.
Carbapenemina, 138.
Carbenicilina, 136t.
Carboxipenicilina, 136.
Carbunco, 382, 904.
Cardiobacterium 475.
— *hominis*, 475.
Cardiolipina, 536.
Carumonam, 138.
Catalasa, reacción, 75.
Categoría taxonómica, 100.
Cefacetrilo, 137t.
Cefaclor, 137t.
Cefadroxil, 137t.
Cefalexina, 137t.
Cefaloglicina, 137t.
Cefaloridina, 137t.
Cefalosporina, 136-138.
Cefalotina, 137t.
Cefamandol, 137t.
Cefamicina, 138.
Cefapirina, 137t.
Cefatricina, 137t.
Cefazolina, 137t.
Cefoperazona, 137t.
Ceforanida, 137t.
Cefotaxima, 137t.
Cefradina, 137t.
Cefsulodina, 137t.
Ceftazidina, 137t.
Ceftizoxima, 137t.
Ceftriaxón, 137t.
Cefuroxima, 137t.
Células, antígenos, 214.
— cebadas, 227.
— nulas, 225.
— pared, 23-30.
— procariotas, 13.
— *stem*, 220.
— eucariotas, 11-13.
Ceratopogonidae, 902.
Cestodos, 866-876.
Ciliophora, 815-817.
Cimex, 901t.
Cimicidae, 904.
Ciprofloxacina, 151.
Circulación linfocitaria, 234.
Cisticercosis, 871.
Citólisis, 264.
Citomegalovirus, 632-633, 738.
Citoplasma bacteriano, 32-33.
Citotoxicidad, 264, 276.
Citotoxina, 263.
Citrobacter, 443.
Clasificación bacteriana, 100.
Clavamina, 138.
Clindamicina, 147.
Clonorchis sinensis, 861.
Cloranfenicol, 145.
— efectos adversos, 146t.
— indicaciones, 146t.
Cloro, 113.
Clorohexidina, 114.
Clortetraciclina, 144t.
Clostridio, 387.
Clostridium, 387-402, 403.
— *botulinum*, 179, 180t, 186t, 399-402.
— *difficile*, 180t, 181, 396.
— *diphtheriae*, 179, 180t, 186t.
— *perfringens*, 158, 180t, 181, 182, 392-399.

Clostridium tetani, 179, 180t, 388-392.
Clotrimazol, 151t.
Coaglutinación, 275.
Coagulasas, 336.
Coccidioides immitis, 773.
Cólera, 458-461.
— exotoxina, 457, 458.
Colitis pseudomembranosa, 396.
Colonias bacterianas, 67.
— — coloración, 67.
— — consistencia, 67.
— — forma, 67.
— — superficie, 67.
— — tamaño, 67.
— — transparencia, 67.
Colonización, 164.
— bacteriana, 161.
Comensalismo, 153.
Complejo *M. avium-intracellulare-scrofulaceum*, 526.
— Tacaribe, 667.
Complementación vírica, 598.
Complemento, reacción fijación, 276.
Conjugación bacteriana, 95.
Contacto directo, 322.
Contagio artrópodos, 324.
— gotas, 323.
— indirecto, 323.
— vehículo infección común, 323.
— vía aérea, 323.
Conversión lisogénica, 95.
Cooperación celular, 228-230.
Coprocultivo, fiebre tifoidea, 428.
Cord factor, 512.
Coriomeningitis linfocitaria, virus, 666, 721.
Coronavirus, 691-692.
Corynebacterium 158, 370.
Cotrimoxazol, 150.
Cowpox, 626.
Coxiella burnetii, 562.
Crecimiento bacteriano, 62-68.
— — condiciones físico-químicas, 70.
— — cultivo continuo, 65.
— — curva, 62.
— — desequilibrado, 66.
— — equilibrado, 66.
— — estudio cualitativo, 67.
— — — cuantitativo, 62.
— — fase declinación o muerte, 64.
— — — desarrollo exponencial o logarítmico, 63.
— — — estacionaria, 63.
— — — latencia, 63.
— — generación, 65.
— — medios líquidos, 67.
— — sincrónico, 66.
Críptico, 46.
Criptosporidiosis, 855.
Crithidia, 820.
Cromomicosis, 776.
Cryptococcus, 786-788.
— *neoformans*, 738, 786-788.
Cryptosporidium, 738, 855.
Cucarachas, 907.
Culex, 889t, 893t, 901.
Culicidae, 900-902.
Culicoides, 902.
Cultivo bacteriano, medios, 76-78.
— continuo, crecimiento bacteriano, 65.
— virus, 586.
Curación, 43.
Curva crecimiento bacteriano, 62, 64.
Cyanobacteria, 17.

Ch

Chancro blando, 489.
Chinches, 904.
Chlamydia, 166t, 567-573.
— *psittaci*, 567.
— *trachomatis*, 567.
Chromobacterium, 475.
— *violaceum*, 475.
Chrysaps, 889t, 893t, 901t, 903.

D

Defensas externas, 189.
— — factores mecánicos, 189.
— internas, 192-201.
— — factores humorales, 198.
Deicrococcaceae, 333.
Deleción bases moleculares, 91.
Demetilclortetraciclina, 144t.
Demadex, 893t.
Demodicidosis, 896.
Dengue, 664.
Densovirus, 640.
Dependovirus, 640, 641.
Derivados imidazólicos, 756.
— poliénicos, 756.
Desecación, 109.
Desinfección, 111.
Desinfectante, 111.
— mecanismo acción, 116.
— resistencia, 118.
— valoración, 117-119.
Desoxiuridinas, 619.
Detergentes catiónicos, 114.
Determinantes, 44.
— antigénicos, 206, 213.
— conformacionales, 213.
— hapténicos, 207.
— inmunogénicos, 207.
— secuenciales, 213.
Deuteromycotina, 753.
Diarrea viajeros, 439.
Diauxia, 64.
Dibekacina, 139t.
Dicrocelium dentriticum, 862.
Difteria, 372-373.
Difusión agar antibióticos, 133.
Digenea, 857.
Dilución antibióticos, 132.
Dipetalonema perstans, 889, 889t.
Diphyllobothrium latum, 870.
Diptera, 900-904.
Dipylidium caninum, 869.
Distomas, 857.
División bacteriana, 60-62.
Doxiciclina, 144t.

E

Echinococcus granulosus, 872.
— *multilocularis*, 875.
Edema maligno, 382.
Edwarsiella, 445.
EIA, 279-280.
Eikenella, 475.
— *corrodens*, 475, 483-484, 484t.
ELISA, 280.
Embarazada, listeriosis, 377.
Encefalitis, 902.
— transmitidas garrapatas, 661.
— — mosquitos, 661.
Encefalomielitis postinfecciosa, 690.
Encefalopatías espongiformes animales, 719.
Endotoxinas, 182-185.
Enfermedad Creutzfeld-Jacob, 719.
— Chagas, 827, 905.
— inclusiones, 632.
— infecciosa, 161.
— — epidemiología, 320-330.
— — profilaxis, 220-230.
Enfermedad Lyme, 543, 897.
— respiratoria aguda, 639.
— Weil, 547.
Enoxacina, 151.
Entamoeba, 808-815.
— *histalytica*, 808-813.
Enterabacter, 158, 441, 442.
Enterobacteriaceae, 481t.
Enterobacterias, 413-421.
— oportunistas, 417, 441-448.
— patógenas, 417.
Enterobius vermicularis, 879.
Enterocolitis, 425-427.
Enterotoxinas, 336, 394.
— *E. coli*, 437.
— TL, 437.
— TS, 437.
Enterovirus, 642-650.
— tipo 68-71, 648, 649.
— — 72, 649, 704.
Enzimoinmunoanálisis, 279-280.
Eosinófilos, 227.
Epidemiogénesis, 325-326.
Epidemiología enfermedades infecciosas, 320.
— hospitalaria, 326-330.
Epidermophyton, 759, 761t, 765.
— *floccosum*, 765.
Epimastigote, 820.
Erisipela, 347.
Eritema nudoso, 454.
Eritrasma, 770.
Eritromicina, 146.
— efectos adversos, 146t.
— indicaciones, 147t.
Erysipelothrix rhusiopathiae, 380.
Escarlatina, 347.
Escherichia, 435-439, 441.
— *coli*, 158, 169t, 170, 180t, 181, 435.
— — enterohemorrágicos, 437.
— — enteroinvasivos, 437.
— — enteropatógenos, 436.
— — enterotoxigénicos, 437.
— — fimbrias, 165t.
Espacio periplásmico, 32.
Espectinomicina, 139.
Espiramicina, 146.
Espiroquetas, 534-543.
Esporo bacteriano, 52-54.
— composición química, 52.
— estructura, 52.
— germinación, 53.
— morfología, 52.
— tinción, 52.
Esporulación, 53.
— fases, 53.
— iniciación, 53.
Esquistosomiasis, 864.
Esterilización, 111, 114t.
Estimulación vírica, 598.
Estreptococos grupo A, 345-348.
— — B, 348.
— — C, 348.
— — D, 348.
— — F, 348.
— — G, 348.
— α-hemolíticos, 348.
Estreptodornasa, 346.
Estreptolisinas, 346.
Estreptomicina, 139t.
Estreptoquinasa, 346.
Estructura bacterina, 25-55.
Eubacterium, 403.
Eucariotas, 11-22.
Examen fresco bacterias, 56.
Exfoliatina, 335.
Exotoxina, 178-182.
— colérica, 457, 458.
— diftérica, 371.
— piociánica, 479.

F

Factor Col, 45.
— resistencia plásmidos bacterianos, 44.
— sexual plásmidos bacterianos, 44.
— transferencia, 44.
Fago λ, 80.
— Φ X-174, 80.
— ADN monocatenario, 84.
— ARN, 84.
— diagnóstico, 88.
— T_2, 80.
Fagocitosis, 196-198, 264.
Fagoterapia, 88.
Fagotipia, 88.
Fasciola, 859-863.
— *buski*, 862.
— *hepatica*, 859-861.
Fenética, 102.
Fenol, 113.
Fenotípica, 102.
Fenotipo bacteriano, variaciones, 89.
Fenoxi-alquil-penicilina, 135.
Feomicosis, 777.
Fermentación, 2.
— bacteriana, 73.
Fibrinolisinas, 336.
Ficología médica, 757.
Ficomicosis, 776.
Fiebre amarilla, 662, 902.
— botonosa, 561.
— faringoconjuntival, 639.
— hemorrágica argentina, virus, 667.
— — boliviana, virus, 667.
— — Corea, 663.
— — Crimea-Congo, 663.
— Lassa, virus, 667.
— manchada, 561.
— — Montañas Rocosas, 561.
— mordedura rata, 463, 477.
— Q, 562, 898t.
— recurrente, 898t.
— — endémica, 542.
— — epidémica, 542.
— — hispano-africana, 898t.
— reumática, 347.
— tifoidea, 427-430.
— — coprocultivo, 428.
— — hemocultivo, 428.
— — pruebas serológicas, 428.
— — vacuna, 429.
— tsutsugamushi, 896.
— Valle Rift, 663.
Fijación complemento, reacción, 276.
Filarias, 888-890.
Filariasis, 902.
Filogenética, 102.
— cladística, 102.
— patrística 103.
Filogenia bacteriana, 100.
Filoviridae, 668.
Filtración, 111.
Fimbrias bacterias, 51.
— comunes, 51.
Firmibacteria, 20.
Firmicutes, 20.
Fisiología bacteriana, 69-79.
Flagelos, antígeno H, 51.
— bacterianos, 48-51.
— composición, 49.
— estructura, 49.
— morfología, 49.
— movilidad, 50.
— tinción, 49.
Flavivirus, 657.
Flavobacterium, 484, 485.
Flora microbiana normal, 154-150.
— normal boca, 156.
— — tubo digestivo, 157.
Flora normal, vías respiratorias, 155.
— piel, 154.
Flucitosina, 152.
5-Fluorocitosina, 757.
Foliculitis, 336.
Formol, 114.
Fosfomicina, 148.
Francisella, 468-470.
— *tularensis*, 468, 903.
Frío, acción bacterias, 108.
FTA-ABS, 540.
FTR, 44.
Fuente infección, 320.
Furúnculo, 336.
Fusión celular vírica, 600.
Fusobacterium 158, 403, 404.

G

Gammaherpesvirinae, 628.
Ganglios linfáticos, 232.
Gangrena gaseosa, 394.
Gardnerella, 474.
— *vaginalis*, 474.
Garrapatas, 897.
Gastroenteritis, 425-427.
— vírica, 654-656.
Generación espontánea, 2.
Genes cadenas ligeras, configuración, 251.
— — pesadas, configuración, 252.
Genética bacteriana, 89-99.
Gentamicina, 139t.
Germinación esporo, 53.
— — activación, 54.
— — extrusión, 54.
— — iniciación, 54.
Giardia, 828-830.
— *intestinalis*, 828-830.
Glicocálix, bacterias, 48.
Glicol, 115.
Glomerulonefritis aguda, 348.
Glossina, 825, 827, 893t, 901t, 903.
— *morsitans*, 825, 827.
— *palpalis*, 825, 827.
Glutaraldehído, 114.
Gracilicutes, 19.
Gramnegativos, pared celular, 27.
Grampositivos, pared celular, 27.
Gripe, 675-682.
— animal, 677.
— epidémica, 676.
— pandémica, 675.
— vacunas, 679-681.
— vigilancia epidemiológica, 681.
Griseofulvina, 151t, 152, 756.

H

HA, 671.
Haemophilus, 486-489, 492t.
— *aegyptius*, 489.
— *ducreyi*, 487t, 489.
— *influenzae*, 486-489, 487t.
Hafnia, 441, 443.
Halófilos estrictos, 21.
HB_eAg, 707.
HB_sAg, 706.
Heces, diagnóstico parasitológico, 805.
Helmintos, 857-865.
Hemaglutinación adenovirus, 638.
— pasiva, 275.
— vírica, 559.
Hemaglutinina, 671.
Hemocultivo brucela, 498.
— fiebre tifoidea, 428.
Hemoflagelados, 819-830.
Hemolisinas, 335.
Hemólisis vírica, 600.
Hepadnavirus, 706.
Hepatitis A, 649, 704-706.
— B, 706-714, 723t.
— delta, 147.
— no-A no-B, 714-715.
Herpes zoster, 631.
Herpesviridae, 723t.
Herpesvirus, 628-635, 725, 726, 727.
Heteroptera, 904-905.
Hexón, 637.
Hibridomas, 254.
— células T, 255.
Hierro, 172.
Hipersensibilidad anafiláctica, 281-288, 281t.
— celular, 281t, 291-294.
— citolítica, 281t, 288-289.
— citotóxica, 281t, 288-289.
— estimuladora, 281t, 294.
— infecciones, 293.
— inmunocomplejos, 281t.
— mediada complejos Ag-Ac, 289-291.
— retardada, 281t, 291-294.
— tipo I, 281-288, 281t.
— — II, 288-289.
— — III, 289-291.
— — IV, 291-294.
— — V, 294.
Histoplasma capsulatum, 771-773.
Hongos, 15.
— oportunistas, 779-793.
— reproducción, 749-751.
Hospital, epidemiología, 326-330.
HTLV I, 732.
— II, 732, 735.
Huésped, 798.
— constitución genética, 211.
Huésped-bacteria, relación, 153-201.
Huésped-parásito, relación, 799-800.
Humedad, 109.
Hymenolepis nana, 869.

I

Identificación bacteriana, 100.
Idiotipos Ig, 246.
Ig, 239. V. también *Inmunoglobulinas*.
— alotipos, 246.
— antigenicidad, 245-247.
— evolución, 253.
— idiotipos, 246.
— isotipos, 245.
— ligadas membrana, 245.
— producidas, cambios, 252.
— secretadas, 245.
IgA, 248.
IgD, 248.
IgE, 249.
IgG, 248.
IgM, 248.
Imidazoles, 152.
— derivados, 756.
Imipenem, 138.
Inclusión citoplásmica, 32.
Inducción fágica, 86.
Infección abortiva, 596.
— cadena, 320-325.
— citolítica vírica, 603.
— diagnóstico directo, 314-318.
— — indirecto, 318-319.
— genital, 571.
— hipersensibilidad, 293.
— inaparente, 161.
— inmunidad, 295-297.
— lenta, 716-721.
— mecanismos transmisión, 321-324.
— microbiana, patogenia, 175-177.
— oportunista, 738.

Infección persistente vírica, 603, 607.
— — — latente, 607.
— — — lenta, 607.
— — — mecanismo, 608.
— población susceptible, 324.
— restrictiva, 596.
— teoría microbiana, 3.
Inflamación, 192, 264.
Influenzavirus tipo A, 671t.
— — B, 671t.
— — C, 671t.
Ingeniería genética, 96-99.
Inhibición síntesis pared celular, 123.
— — proteica, 126.
Inmortalización producción Ac Mc, 254.
Inmovilización treponemas, 276.
Inmunidad, 205.
— activa, 296.
— adquirida, 295.
— bacteriófago, 83.
— celular, virus, 612.
— humoral virus, 611.
— infecciones, 295-297.
— pasiva, 296.
Inmunoadherencia, reacción, 277.
Inmunodifusión doble placa, 271.
— simple placa, 271.
— — radial, 271.
— — tubo, 271.
Inmunodominancia, 206.
Inmunoefectroforesis, 272-273.
— bidimensional, 273.
— «cohete», 272.
— cruzada, 273.
Inmunofluorescencia directa, 277.
— indirecta, 277.
— reacciones, 277.
— «sandwich», 277.
Inmunogenicidad, 206, 208-213.
Inmunoglobulinas, 239, 306-307. V. también *Ig*.
— biosíntesis, 249.
— cadenas, 240.
— dinámica respuesta humoral, 249-250.
— específicas, 307.
— estructura, 240-245.
— fraccionamiento, 240.
— función efectora, 247.
— — reconocimiento, 247.
— normal, 306.
— propiedades biológicas, 247.
— secreción, 249.
Inmunología, 5.
— parasitaria, 800-803.
Inmunopotencia, 206.
Insecta, 898-908.
Interferencia, fenómeno, virus, 608.
Interferón, 609.
Intoxicación alimentaria, 337.
Invasión microbiana, 173-177.
Isospora belli, 855.
Isosporiasis, 855.
Isotipos Ig, 245.
Ixodes, 893t, 897.
Ixodidae, 893t, 897.

J

Josamicina, 146.

K

Kanamicina, 139.
Ketoconazol, 151t.
Kingella, 358t.
Klebsiella, 158, 441.
— *aerogenes*, 166t.
Klebsiella oxytoca, 442.
— *pneumoniae*, 442.
Kuru, 719.

L

β-Lactaminas, 133.
Lactobacillus, 157, 158, 403.
Larva migrans, 884.
Larvas migratorias, 884.
Legionella, 470-474.
— *pneumophila*, 470-474.
Leishmania, 819, 820-824.
— *braziliensis*, 824.
— *donovani*, 820-823.
— *mexicana*, 824.
— *tropica*, 823.
Lepra «borderline», 522.
— lepromatosa, 522.
— tuberculoide, 522.
Lepromina, 524.
Leptomonas, 819.
Leptospira, 535, 544-550.
— *biflexa*, 545.
— *interrogans*, serovar. *icterohaemorrhagiae*, 545.
Leucemia humana, 732.
Leucocidinas, 335.
Leucocitos polinucleares, 193.
Lincomicina, 147.
Lincosamidas, 147.
— efectos adversos, 147t.
Linfoblastos, transformación, 237.
Linfocitos, 220-225.
— B, 205, 224-225.
— — maduración, 224.
— — marcadores, 224.
— — origen, 224.
— supresores, 222, 222t.
— T, 205, 221-224.
— — citotóxicos, 222, 222t.
— — cooperadores, 222, 222t.
— — efectores, 222.
— — *helper*, 222, 222t.
Linfogranuloma venéreo, 571.
Linfoma Burkitt, 633.
Linfoquinas, 206, 293.
Lisis bacteriofágica, caracteres, 85.
— espontánea, 85.
Lisotipia, 88.
Listeria, 376.
— *monocytogenes*, 376-380.
Listeriosis, embarazada, 377.
— neonatal, 377.
Loa loa, 889, 889t, 903.
Lobomicosis, 777.
Lombrices, 878.
LYDMA, 634.
Lymnaea, 859t.
Lyssavirus, 697.

M

Macrófagos, 193, 225-227.
— migración, inhibición, 238.
Macrólidos, 146.
Maduromicosis, 777.
Mansonella azzardi, 889t.
Marcadores, 222-224.
Mastadenovirus, 636.
Mastigophora, 819-831.
Mecanismos evasión, parasitosis, 802.
Mecilinam, 136t.
Medicina, Premios Nobel, 8.
Medios cultivo bacteriano, 76-78.
— — — comunes, 77.
— — — conservación, 78.
Medios cultivo bacteriano diferenciales, 77.
— — — enriquecidos, 77.
— — — enriquecimiento, 77.
— — — especiales, 78.
— — — identificación, 78.
— — — líquidos, 77.
— — — naturales, 77.
— — — selectivos, 77.
— — — sintéticos, 77.
— — — sólidos, 77.
— — — transporte, 78.
Membrana citoplásmica, 30-32.
— — composición, 30.
— — estructura, 30.
— — funciones, 31.
— — propiedades, 31.
Mendosicutes, 20.
Meningitis, 487.
— purulenta, 361.
Meningococo, 359-363.
Mesófilas, 107.
Mesosomas, 31.
Metabolismo bacteriano, 71-76.
Metaciclina, 144t.
Metanógenos, 21.
Metazoos, 16.
6-α-Metoxipenicilina, 136.
Mezlocilina, 136.
Miasis, 904.
Micetoma, 508.
Micología general, 747-758.
Miconazol, 151t.
Micoplasma, 551-557.
— genitales, 555.
Micosis, 753-754.
— cutáneas, 759-770.
— superficiales, 759, 769-770.
Microbios, concepto, 9.
— descubrimiento, 1.
— infección patogenia, 175-177.
— invasión, 173-177.
Micrococcaceae, 333, 334t.
Micrococcus, 339.
Microorganismos oportunistas, 163.
— patógenos, 163.
Microscopio electrónico, 57.
— — barrido, 57.
— — cortes ultrafinos, 57.
— — técnica réplica, 57.
— — vaciado y sombreado, 57.
— — tinción negativa, 57.
Microsistemas identificación bacteriana, 78.
Microsorum, 759, 761t, 762-763.
— *audouinii*, 762.
— *canis*, 762.
— *gypseum*, 763.
Migración macrófagos, inhibición, 238.
Minociclina, 144t.
Mobiluncus, 403, 404.
Moléculas clase I, 215.
— — II, 215.
Mollicutes, 20, 551.
Molluscum contagiosum, 626.
Monkeypox, 626.
Monobactámicos, 138.
Monocitos, 193.
Mononucleosis infecciosa, 633.
Moraxella, 358t, 484t, 485.
Morbillivirus, 684.
Morganella, 444.
— *morganii*, 444.
Movilización, 43.
Moxalactam, 138.
Mucor, 792.
Muestra, toma, 312-314.
Multiplicación bacterias, 172-173.
Mundo microbiano, 11-22.
Musca, 893t, 901t, 903.

Mutación bacteriana, 89-92.
— somática, 250.
— vírica, 599.
Mutualismo, 153.
Mycobacterioceae, 511.
Mycobacterium, 511.
— *avium intracelullare*, 738.
— *kansasii*, 526.
— *leprae*, 520-525.
— *tuberculosis*, 186t, 511-520, 738.
Mycoplasma, 552.
— *genitalium*, 552t.
— *hominis*, 552t.
— *pneumoniae*, 166t, 552, 552t, 554.
Mycoplasmatoles, 551.

N

NA, 671.
Naegleria, 814.
— *fowleri*, 814-815.
Necator americanus, 881.
Nefropatía epidémica, 663.
Nematodos, 877-890.
Neisseria, 358-369, 358t.
— *gonorrhoeae*, 166t, 169t, 364-369.
— *meningitidis*, 166t, 359-363.
Neisserioceae, 358.
Nematodos intestinales, 878-885.
— tisulares, 886-890.
Neomicina, 139t.
Neonato, listeriosis, 377.
— tétanos, 390.
Netilmicina, 139t.
Neumonía atípica, 554.
— lobar, 354.
Neuraminidasa, 671.
Neurotoxina botulínica, 399.
Neutralización, reacción, 280.
N-formimidoil-tienamicina, 138.
Nistatina, 151t, 756.
Nitratos, reducción, 75.
Nitrofurantoína, 151.
Nocardia, 505-510.
— *asteroides*, 510.
— *brasiliensis*, 510.
Nocardiosis, 508.
Nomenclatura bacteriana, 100, 104-106.
Norfloxacina, 151.
Northern blotting, 280.
Núcleo bacteriano, 35-41.
— — composición, 35.
— — estructura, 35.
— — funciones, 37-41.
— — morfología, 35.
Nutrición bacteriana, 69-71.

O

Ofloxacina, 151.
Oleandomicina, 146.
Oncogénesis vírica, teorías, 742-743.
Oncomelania, 859t, 865.
Onchocerca volvulus, 889, 889t, 902.
Opisthorchis felineus, 861.
Orbivirus, 652, 657, 660.
Organos linfáticos,230-234.
Ornithodoros, 893t, 897.
Orthomyxoviridae, 670.
Orthomyxovirus, 670-682.
— variaciones antigénicas, 672-674.
Orthopoxvirus, 621.
Oxacefemina, 138.
Oxidasas, reacción, 75.
Oxido etileno, 115.
Oxígeno, relación bacterias, 74.
Oxitetraciclina, 144t.
Oxyphotobacteria, 20.

P

Paludismo, 837, 902.
— tratamiento, 840.
Panencefalitis esclerosante subaguda, 690, 720.
Papovaviridae, 723t.
Papovavirus, 723-724, 725.
Paracoccidioides brasiliensis, 775.
Parogonimus westermani, 862.
Paramixovirus, 683-691.
Paramyxoviridae, 683.
Paramyxovirus, 684.
Parapoxvirus, 626.
Parasitismo, 153.
Parásito, 797-798.
— concepto, 9.
— extracelular, 163.
— inmunología, 800-803.
— intracelular, 163.
Parásito-huésped, relación, 799-800.
Parasitología, 7.
— diagnóstico heces, 805.
— general, 797-806.
Parasitosis, mecanismos evasión, 802.
Pared bacteriana, funciones, 30.
— — propiedades, 30.
— — síntesis, 29.
— celular, 23-30.
— — bacterias carentes, 30.
— — composición, 26.
— — síntesis, inhibición, 123.
Paromomicina, 139t.
Parotiditis, virus, 684, 687-689.
...rvoviridae, 640.
...ovirus, 640-641.
...erico, B-19, 641.
Pasteurella, 467-468.
— *multocida*, 467.
Pediculus, 893, 901t.
— *humanus*, 906.
Pefloxacina, 151.
Penetración bacterias, 171-172.
Penicilina, 134-136.
— antiestafilocócica, 135.
— benzatina, 135.
— clasificación, 136t.
— G, 134.
— procaína, 135.
— reacciones adversas, 135t.
— V, 135.
Penicilinasas, 336.
Pentón, 637.
Peptococcus, 404.
Peptostreptococcus, 403, 404.
Peste, 906.
— bubónica, 451.
— pulmonar, 451.
Petición investigación, 311.
Phlebotomus, 820, 893t, 901t, 902.
Phthirus, 901t.
— *pubis*, 906.
Pian, 541.
Picornaviridae, 642.
Picornavirus, 642-651.
Pie atleta, 761.
Piedra, 769.
Piel, flora, 154.
Pieza J, 244.
— secretoria, 244.
Pigmentos bacterianos, 76.
— piocíánico, 479.
Pili, 51.
— F, 51.
— «F-like», 51.
Pili I, 51.
— «I-like», 51.
Pinta, 541.
Piperacilina, 136.
Pityrosporum, 155.
Pivmecilinam, 136.
Placas Peyer, 234.
Plásmido B, 44.
— críptico, 46.
— degradante, 45.
— «Ent», 45.
— estafilocócico, 46.
— «Hly», 45.
— «Inv», 45.
— «K», 45.
— R, 44.
— — agregado, 44.
— — cointegrado, 44.
— — conjugante, 128.
— — no conjugante, 128.
Plasmodium, 832-843.
Plesiomonas, 463.
Pneumocystis carinii, 738, 852-855.
Pneumovirus, 684.
Población susceptible infección, 324.
Poder patógeno, 162-163.
Poliénicos, 151.
Polimixina, 142, 142t.
Poliovirus, 644-648.
Polipéptidos, 142.
Portador, 321.
Postulados Koch, 161.
Poxviridae, 621, 723t.
Poxvirus, 621-627, 724, 726.
Precipitación medio líquido, 269.
— — sólido, 270.
— reacción, 268-273.
Premios Nobel Medicina, 8.
Priones, 582.
Procariotas, 11-22.
Profilaxis enfermedades infecciosas, 220 230.
— general, 330.
Promastigote, 819.
Propionibacterium, 403.
— *acnes*, 155, 403.
Protección, reacción, 280.
Proteínas, 583.
— síntesis, inhibición, 126.
Proteus, 158, 444.
— *mirabilis*, 166t, 172, 444.
— *vulgaris*, 444.
Prototheca, 757.
Protozoos, 16, 807-818.
— flagelados, 819-831.
Providencia, 444.
— *rettgeri*, 444.
Prueba Coombs, 275.
— — anti-*Brucella*, 499.
— — directa, 275.
— — indirecta, 275.
— Hugh-Leifson, 74.
— Paul-Bunnell-Davidsohn, 634.
— rosa Bengala, 499.
— Sereny, 439.
— tuberculina, 515.
Pseudomonas, 158, 478-483.
— *aeruginosa*, 166t, 169t, 179, 180t, 479-482, 484t.
— *cepacia*, 483.
— *maltophilia*, 483.
— *mallei*, 483.
— *pseudomallei*, 483.
Psicrófilas, 107.
Psychodidae, 902.
Pulex, 901t.
— *irritans*, 906.
Pulga rata, 453.
Pústula maligna, 382.

Q

Queratoconjuntivitis epidémica, 639.
Quimioterápicos, 5.
— urinarios, 151.
Quinolonas, 151.
Quiste hidatídico, 872.

R

Radiaciones, 110.
Radioinmunoanálisis, 277-279.
Rango taxonómico, 100.
Reacción aglutinación, 273-276.
— antígeno-anticuerpo, métodos secundarios, 267.
— — — serológicos, 267.
— — — terciarios, 268.
— fijación complemento, 276.
— inmovilización, 540.
— inmunoadherencia, 277.
— inmunofluorescencia, 277.
— neutralización, 280.
— precipitación, 268-273.
— primaria Ag-Ac, 267.
— protección, 280.
— transferencia, 280.
— Voges-Proskauer, 75.
— Weil-Felix, 564.
Recombinación, 43.
— genética virus, 597.
— somática, 250.
Reduviidae, 828, 905.
Reino *Procaryotae*, 19.
Relación huésped-bacteria, 153-201.
— huésped-parásito, 799-800.
Reoviridae, 657, 660.
Reovirus, 652-656.
Replicación, 43.
— virus, 592-597.
Reservorio, 320.
Resistencia antibióticos, 128-129.
— — cromosómica, 128.
— — extracromosómica, 128.
— — mecanismo, 129.
— — — alteración permeabilidad, 129.
— — — cambio lugar acción antimicrobianos, 129.
— — — modificación enzimática, 129.
— — — — — — bacterias, 129.
— natural, 295.
Respiración bacteriana, 72.
Respuesta celular, 205, 234-238.
— — cinética, 234.
— — evaluación, 237.
— — — prueba *in vitro*, 237.
— — — — — — vivo, 237.
— — rama aferente, 235.
— — — eferente, 235-237.
— humoral, 205.
— inmunitaria específica, 205.
— — inespecífica, 205.
Restricción CMH, 228.
Retrovirus, 727-743.
Reumatismo poliarticular agudo, 347.
Rhabdoviridae, 697.
Rhipicephalus, 893t, 897.
Rhizopus, 792.
Rhodnius, 828.
Rhodotorula, 785.
RIA, 277-279.
Ribostamicina, 139t.
Rickettsia, 559-565.
— *conorii*, 561.
— *prowazekii*, 559, 560.
— *rickettsii*, 561.
— *tsutsugamushi*, 896.
— *typhi*, 559, 561.
Rickettsiaceae, 558-565.
Rickettsias, 558-566.
Rifamicina, 147-148.
— SV, 147.
Rifampicina, 147.
Rinosporidiosis, 777.
Rinovirus, 650-651.
Ristocetina, 142t.
Rojo metilo, reacción, 75.
Rosaramicina, 146.
Rosetas, formación, 237.
Rotavirus, 652-654.
Rubéola, vacuna, 696.
— virus, 693-696.
Rubivirus, 693.

S

Salmonella, 422-430.
— clasificación biotipos, 424.
— — Edwards y Ewing, 423.
— — fagotipos, 424.
— — Kauffmann, 423.
— — Le Minor, 423.
— — serotipos, 423.
— *enteritidis*, 425.
— esquema serológico Kauffmann-White, 423.
— estructura antigénica, 422.
— *paratyphy* A, 427.
— — B, 427.
— — C, 427.
— *typhi*, 186, 427.
— *typhimurium*, 425.
Saprofitos, 153.
Sarampión típico, 689.
— vacuna, 690.
— virus, 689-691.
Sarcocistosis, 855.
Sarcocystis, 855.
Sarcodina, 808-815.
Sarcoptes scabiei, 894.
Sarna, 894-896.
Scorpionida, 898.
Scotobacteria, 20.
Schistosoma, 863-865.
— *haematobium*, 864.
— *japonicum*, 864.
— *mansoni*, 864.
Sepsis meningocócica, 360.
Septo, división, 60.
Serología, sistema Ag-Ac, 268.
Serovacunación, 307.
Serratia, 441, 442.
Shigella, 186t, 431-435.
— *boydii*, 432.
— *dysenteriae*, 180t, 181, 432.
— *flexneri*, 166, 432.
— *sonnei*, 432.
Shock endotóxico, 265.
Sicosis barba, 760.
SIDA, 633, 735-742.
Sífilis, 538-540.
— endémica, 541.
Simbiontes, 153.
Simulidae, 902.
Simulium, 889t, 893t, 901t.
Síndrome inmunodeficiencia adquirida, 735 742.
— Liell, 337.
— shock tóxico, 337.
— Waterhouse-Friederichsen, 361.
Siphonaptera, 905.
Sisomicina, 139t.
Sistema complemento, 257-266.
— — activación patogénica, 265.
— — componentes, 258.
— — deficiencias, 265.
Sistema complemento, funciones biológicas, 264-266.
— — intervención patogénica, 265.
— — mecanismo ataque membrana, 262.
— — niveles disminuidos, 266.
— — regulación, 263.
— — vía alternativa, 261.
— — — clásica, 259-261.
— H-2, 215.
— HB_cAg-HB_cAc, 708.
— HB_eAg-HB_eAc, 708.
— HB_sAg-HB_sAc, 708.
— HLA, 215, 216.
— inmunitario, 205.
Sodoku, 463.
Southern blotting, 208.
Spirillum, 463-464.
— *minus*, 463.
Sporothrix schenckii, 775-776.
Sporozoa, 832-843.
Staphylococcus, 169t, 333-342, 334t.
— *aureus*, 156, 166t, 180t, 181, 182, 186t, 333-338.
— — toxinas, 335-336.
— *epidermidis*, 155, 156, 338.
— otras especies, 338.
— *saprophyticus*, 339.
Stomoxys, 893t, 901t, 903.
— *calcitrans*, 385.
Streptobacillus, 476.
— *moniliformis*, 476.
Streptococcus, 182, 186t, 343-352.
— *faecalis*, 158.
— *mutans*, 156, 166t, 169t, 172.
— *pneumoniae*, 186t, 353-357.
— *pyogenes*, 166t, 169t, 180t, 345-348.
— *salivarius*, 156.
sanguis, 156, 166t, 169t.
— *viridans*, 156, 348.
Strongyloides stercolaris, 883.
Suero, 305-307.
— antimicrobiano, 305.
— antitóxico, 5, 305.
— heterólogo, 305.
— homólogo, 306-307.
Sulbactam, 138.
Sulfamidas, 148-150.
Sustancias bactericidas, 191.
Sustitución bases moleculares, 91.

T

Taba, 626.
Taenia saginata, 868.
— *solium*, 868.
Tanapox, 626.
Taxonomía bacteriana, 100.
— numérica, 102.
T_C, 222.
T_{DTH}, 222.
Teicoplanina, 143.
Tejidos, antígenos, 214.
Temocilina, 136.
Tenericutes, 20.
Teoría dominios, 245,
Termoacidófilos estrictos, 21.
Termófilas, 107.
Tétanos, 389.
— *neonatorum*, 390.
Tetraciclina, 144, 144t.
— indicaciones, 145t.
Thallobacteria, 20.
Tianfenicol, 145.
— efectos adversos, 146t.
Ticarcilina, 136t.
Tifus endémico, 561.
— exantemático epidémico, 560.
— murino, 906.

Timo, 231.
Tinción bacterias, 33-34, 56.
— esporo, 52.
— flagelos, 49.
— Gram, 33.
— Ziehl-Neelsen, 33.
Tinea capitis, 759.
Tiña, 759-769.
— fávica, 760.
— negra palmar, 769.
— versicolor, 769.
Tiosemicarbazonas, 619.
Tirotricina, 142t.
T_K, 222.
Tobramicina, 139t.
Togaviridae, 657, 693.
Tolerancia natural, 205.
Toma muestra, 312-314.
Torulopsis glabrata, 785.
Tos ferina, 491.
Toxiinfección alimentaria, 395, 425-427.
Toxina α, 393.
— β, 394.
— ϰ, 394.
— μ, 394.
— eritrogénica, 346.
— *S. aureus*, 335-336.
— tetánica, 389.
Toxocara canis, 885.
Toxoplasma gondii, 738, 844-852.
Toxoplasmosis, 848.
Tracoma, 570.
Transducción, 94.
— generalizada, 94.
— restringida, 94.
Transfección, 94.
Transferencia conjugación, 43.
— genética bacterias, 92-96.
— reacción, 280.
Transformación, 93.
— vírica, 598.
Transmisión infecciosa, mecanismos, 321 324.
Trematodos, 857-865.
Treponema, 534, 535-541.
— *carateum*, 541.
— *pallidum*, 535-541.
Treponemas, inmovilización, 276.
Triatoma, 828, 893t, 901t, 905.
Triatomidae, 828.
Trichiuris trichiura, 879.
Trichomonas, 830-831.
— *vaginalis*, 830-831.
Trichophyton, 759, 761t, 763-765.
— *mentagrophytes*, 763.
— *rubrum*, 763.
— *schoenleinii*, 765.
— *verrucosum*, 764.
— *violaceum*, 764.
Trimetoprim, 150.
Tripanosomiasis, 826.
— africana, 904.
Triquinosis, 886.
Trombicula, 893t, 896.
Tropicorbis, 859t, 865.
Trypanosoma, 820, 824-828.
— *cruzi*, 827-828, 905.
— *gambiense*, 825-827.
— *rhodesiense*, 825-827.
Trypomastigote, 820.
Tuberculina, prueba, 515.
Tubérculo, 513.
Tuberculosis, 515-516.
— extrapulmonar, 516.
— pulmonar, 515-516.
Tubo digestivo, flora normal, 157.
Tularemia, 898t.

U

Uncinariasis, 881-883.
Unidad básica tetrapeptídica, 240.
Ureaplasma, 552.
— *urealyticum*, 552, 555.
Ureidopenicilina, 136.
Uretritis gonocócica, 365.

V

Vacuna, 4, 297-302, 356, 626.
— antidiftérica, 375.
— antígenos purificados, 299-300.
— antitetánica, 391.
— antitóxica, 299.
— atenuada, 297.
— — tipo Sabin, 647.
— BCG, 519.
— combinada, 301.
— fiebre tifoidea, 429.
— gripe, 679-681.
— inactivada, 298-300.
— monovalente, 301.
— muerta, 298-300.
— polivalente, 301.
— rubéola, 696.
— sarampión, 690.
— sustancias adyuvantes, 300.
Vacunación, 302-305.
— antirrábica, 702.
— calendario, 304.
Valencia antígeno, 213.
Vancomicina, 142t.
Varicela, 625, 631.
Varicela-zoster, 738.
Veillonella, 157, 403, 404.
— *parvula*, 404.
VHB, 706.
VHS-1, 629.
VHS-2, 629.
Vías respiratorias, flora normal, 155.
Vibrio, 481t, 456-463.
— *alginolyticus*, 457.
— *cholerae*, 166t, 179, 180t, 186t, 456, 457-461.
— — biotipo clásico, 457.
— — — eltor, 457.
— *parahaemolyticus*, 456, 462-463.
Viomicina, 142t.
Viroides, 582.
Virosis, diagnóstico, 613-618.
— — métodos aislamiento, 613.
— — — serológicos, 613.
Viruela, 623-625.
— virus, 621.
Virulencia, 162-163.
Virus, 21-22.
— ADN oncógenos animales, 722-724.
— — replicación, 593-595.
— antígenos, 599-600.
— capacidad oncógena, 608.
— clasificación, 587t.
— complementación, 598.
— concepto, 577.
— coriomeningitis linfocitaria, 666, 721.
— Coxsackie, 648.
— — A, 649.
— — B, 649.
— cultivos, 586-591.
— — celulares, 586.
— — — primarios, 590.
— — cepas células diploides, 590.
— — huevos embrionados, 586.
— — líneas celulares, 590.
— — órganos, 591.
— — tisulares, 586.
Virus, descubrimiento, 5.
— Ebola, 668.
— ECHO, 648.
— Epstein-Barr, 633-635, 726, 738.
— estimulación, 598.
— estructura, 577-581.
— fenómeno interferencia, 608.
— fiebre hemorrágica argentina, 667.
— — — boliviana, 667.
— — Lassa, 667.
— fusión celular, 600.
— genética, 597-599.
— hemaglutinación, 599.
— hemólisis, 600.
— hepatitis, 704-715.
— herpe simple, 628-630, 726, 738.
— incompletos, 596.
— infecciones citolíticas, 603.
— — modelos, 605-608.
— — persistentes, 603.
— inmunidad celular, 612.
— — humoral, 611.
— inmunodeficiencia humana, 735-742.
— Junin, 667.
— lentos, 716-721.
— Marburg, 668.
— morfología, 577-581.
— mutaciones, 599.
— Norwalk, 655.
— oncógenos, 722-727.
— parainfluenza, 684-686.
— parotiditis, 684, 687-689.
— rábico, 697-703.
— replicación, 592-597.
— respiratorio sincitial, 684, 686-687.
— rubéola, 693-696.
— sarampión, 689-691.
— simetría binaria, 581.
— — helicoidal, 580.
— — icosaédrica, 578.
— — mixta, 581.
— — no bien definida, 581.
— tamaño, 577.
— transformación, 598.
— varicela-herpes zoster, 630.
— viruela, 621.
Visna, 720.
VVZ, 630.

W

Western blotting, 280.
Wolinella, 403.
Wuchereria bancrofti, 889t, 889.
— *malayi*, 889, 889t.

X

Xenoantígenos, 209.
Xenopsylla, 893t, 901t.
— *cheopis*, 453, 906.

Y

Yersinia, 449-455.
— *enterocolitica*, 449, 454-455.
— *pestis*, 449-453.
— *pseudotuberculosis*, 449, 454-455.
Yodo, 113.

Z

Zygomycotina, 751.