



# TÉCNICAS Y COMENTARIOS EN EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS HECES

Sonia Burstein Alva<sup>1†</sup>

## Estudio Microbiológico de las Heces

Este procedimiento se emplea generalmente para diagnosticar la presencia de bacterias o parásitos patógenos en el tracto intestinal, para lo cual es necesario examinar las heces o la bilis de los pacientes. En muchas especialidades, especialmente en gastroenterología, se le incluye como un procedimiento de rutina ante cualquier sintomatología digestiva. Sin embargo, sabemos que estas manifestaciones son muy frecuentes y no necesariamente están vinculadas a problemas infecciosos. Entre ellas, están la gastritis, la distensión y dolor abdominal, meteorismo, náuseas y alteraciones del tránsito intestinal: estreñimiento o diarreas. Si bien en cualquier circunstancia se puede hacer el hallazgo de un patógeno intestinal, esto será fortuito y más bien se vinculará a un portador ocasional. El síntoma más notorio de infección, es la diarrea, que no sólo condiciona trastornos que pueden ser muy severos, sino que especialmente en niños, puede llevar a deshidratación aguda e irreversible, provocando un alto índice de mortalidad.

### DIARREA

#### Definición

La diarrea es una alteración del tránsito intestinal, que se caracteriza por el incremento del número de deposiciones (más de 3 al día), disminución de la consistencia: pastosas o líquidas, que puede acompañarse de dolor abdominal, fiebre, náuseas o vómitos y de acuerdo a su etiología, de moco, pus y sangre. Puede ser debida a múltiples factores y estar condicionada por diversas circunstancias:

#### Clasificación

##### 1. Diarrea osmótica

Se produce cuando se incrementa un elemento no absorbible en la luz intestinal, provocando una osmolaridad muy alta, con y pH muy bajo (menos de 5.0) por la fermentación de los carbohidratos no absorbidos que pueden provocar irritación de la región perianal. En raros casos puede llevar a la deshidratación, con elevación de sodio en el plasma. Se autolimita y cesa con el ayuno, al suprimir el elemento hiperosmótico.

1 Médica Microbióloga, Doctora en Medicina, Profesora Principal del Depto. de Microbiología de la Facultad de Medicina de San Fernando (UNMSM), Jefa del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNMSM en el Hospital Loayza y Jefa de los Laboratorios de Bacteriología del Hospital Arzobispo Loayza.

Se puede presentar en:

- a) Síndromes de mala absorción, como enfermedad celiaca e intolerancia a la lactosa.
- b) Trastornos pancreáticos que alteran las enzimas digestivas: fibrosis quística.
- c) Empleo de laxantes hiperosmóticos.
- d) Ingesta incrementada de productos como magnesio o vitamina C.
- e) Dieta abundante con alimentos de difícil digestión.

## 2. Diarrea Secretora

En este caso, se produce un incremento de la secreción de electrolitos (Cloro y Sodio), que arrastran agua hacia la luz intestinal y que es causada por alteración en el transporte a través del epitelio. También puede haber una disminución en la absorción del agua. Por cualquiera de estos mecanismos, aumenta considerablemente la cantidad de agua y electrolitos en el intestino y son eliminados al exterior. Se producen heces abundantes, con pH neutro, disminución de sodio superior al potasio y pérdida de bicarbonato, que puede llevar a una acidosis metabólica. Se puede presentar en:

- a) Tumores intestinales como el carcinoide.
- b) Agentes infecciosos como:

### (1) VIRUS:

Afectan la actividad enzimática de los enterocitos, impidiendo el metabolismo de los carbohidratos y la reabsorción de Sodio y agua. Además, favorecen la secreción de iones Cloro. El exceso de fluidos en la luz intestinal condiciona la presencia de diarrea acuosa, que si es muy frecuente, lleva al paciente a la deshidratación.

Actualmente los virus que involucran el tracto intestinal, ha sido divididos en dos grupos:

**Virus que se replican en el tracto intestinal**, de donde pueden aislarse, pero rara vez producen diarreas, diseminándose por la sangre o el RES y produciendo infecciones en otros órganos, incluyen a los:

#### Enterovirus

Este género está constituido por varios grupos:

#### **Poliovirus coxsackie virus A y B Echovirus enterovirus no polio**

Los enterovirus son muy frecuentes, ocupando el segundo lugar después del virus que causa el resfrío común, se contagian fácilmente a través de las secreciones nasales, saliva y heces. Generalmente pasan desapercibidos, con malestar general, síntomas respiratorios o diarreas leves, que ceden sin tratamiento. Pero también pueden producir, según el órgano que colonizan y el estado del huésped, enfermedades muy severas como: poliomiелitis, meningitis aséptica, encefalitis, pericarditis, conjuntivitis, herpangina y síndrome ampollar mano pie boca, que se presentó este año en nuestro medio, en niños en edad escolar.

Es importante conocer que muchos de estos virus, que son considerados de baja patogenicidad, en determinadas circunstancias no conocidas, pueden producir complicaciones severas del sistema neurológico. Desde el año pasado, Estados Unidos y España, enfrentan una severa epidemia emergente de cuadros neurológicos, en niños en edad escolar, producida por el enterovirus D 68, que nunca se consideró mayormente patógeno. Inclusive se han presentado secuelas **importantes y algunos decesos, que están causando gran preocupación** en la población en general y en la comunidad médica mundial, en especial. Se estudia si se trata de un virus más virulento o de una mutación genética que esté dando manifestaciones neurológicas. Se confía que se trate de un brote aislado.

**Virus causantes de producir enfermedad diarreica** que incluyen:  
**Rotavirus norovirus astrovirus adenovirus enterico**

En nuestro medio el más conocido es el ROTAVIRUS, que es la causa más frecuente de gastroenteritis grave en niños de 0 a 5 años y en adultos, especialmente ancianos. Se le considera el agente que genera el mayor índice de morbo mortalidad en niños menores de 1 año, especialmente en países sub desarrollados. La causa de muerte es deshidratación aguda, que debe ser tratada adecuadamente de preferencia por vía oral, o de ser necesario, por vía parenteral. Se recomienda suplementos de zinc y empleo de vacunas restauradoras de flora. No se debe suspender la lactancia materna. Se adquiere y contagia por ingesta y contaminación de manos y áreas ambientales. Posee muchos tipos serológicos, considerando a los del grupo A, los más agresivos. Se han elaborado varias vacunas que se han incorporado a la cartilla de vacunación pediátrica, pero sin obtener una protección completa, salvo aminorar la agresividad del virus. Se diagnostica fácilmente detectando el antígeno viral específico, común a los del Grupo A, mediante una prueba inmunológica de tipo Elisa.

Otro agente viral de gran importancia es el Norovirus, anteriormente conocido como virus de Norwalk y descrito como un agente frecuente en la patología digestiva. El cuadro clínico es muy parecido al que produce el Rotavirus, pero menos severo. También se le encuentra en niños pequeños, pero su incidencia se incrementa con la edad: niños mayores y adultos. Es de corta duración, 3 a 4 días, pero muy contagioso, inclusive puede ser transmitido por el vómito. No es antigénico, pudiendo presentarse varias veces en el mismo paciente y además se excreta en las heces por tiempo prolongado, aumentando su transmisibilidad. Esto genera epidemias, especialmente en ambientes cerrados, que albergan a muchas personas: internados educativos o militares, guarderías, asilos de ancianos y en cruceros, donde fue descrito por primera vez. Se diagnostica con dificultad, porque se deben emplear técnicas inmunológicas sofisticadas que sólo son disponibles en laboratorios de investigación. Rutinariamente se está utilizando una prueba rápida de látex, pero aparentemente tiene poca sensibilidad.

## (2) BACTERIAS

Su incidencia varía entre 1.5-5.5%. Son generalmente adquiridas por vía oral y al superar las defensas locales e inmunológicas, atacan al enterocito, ya sea directamente o por medio de toxinas. Si se produce muerte celular, hay pasaje a la circulación y el paciente puede presentar fiebre, escalofríos, náuseas y vómitos. De acuerdo a este mecanismo, las Enterobacterias se pueden clasificar en:

**No citotóxicas**, cuando actúan sobre las células intestinales, estimulando la función enzimática intracelular, sin producir daño a la capa epitelial. Entre ellas se encuentran el *Vibrio cholerae*, la *Escherichia coli* enterotoxigenica y el *Bacillus cereus*.

**Citotóxicas**, cuando dañan directamente, la capa epitelial, entre ellas se encuentran el *Campylobacter* (2.3%), *Salmonellas* (1.8%), *Shigellas* (1.1%) y *Escherichia coli* enteroinvasiva (0.4%). En menor proporción, se incluyen el *Staphylococcus aureus* y los *Clostridium perfringens* y *difficile*.

## 3. Diarrea por elevada aceleración del tránsito intestinal

El alimento se mueve demasiado rápido en el tracto intestinal y no da tiempo para la absorción de agua y nutrientes. Se observa en colon irritable, en trastornos hormonales, como el hipertiroidismo, en la neuropatía diabética y en la resección quirúrgica de parte del intestino.

## 4. Diarrea exudativa o inflamatoria

Existe daño de la mucosa intestinal por presencia de úlceras o inflamación. Se produce aumento de la permeabilidad celular con pérdida de fluidos ricos en proteínas y paralelamente disminuye su capacidad para reabsorberlas. Se presenta en enfermedades del tracto gastrointestinal como cáncer de colon, colitis

ulcerativa, tuberculosis intestinal o procesos autoinmunes, como la enfermedad de Crohn y la enfermedad celíaca.

## 5. Diarrea irritativa y misceláneas

Se pueden producir por intolerancia a algunos medicamentos, ya sea por sensibilidad propia del paciente (antibióticos) o por automedicación, relacionada con la venta libre de medicamentos.

Entre otras causas debemos considerar la diarrea del viajero, que puede deberse al contacto con bacterias o parásitos no conocidos por el paciente. También las transmitidas por portadores que manipulan alimentos y las que se presentan en instituciones cerradas, como centros hospitalarios, guarderías y hogares para ancianos. Este tipo de diarreas se generan por el empleo indiscriminado de antibióticos, que puede generar la aparición de cepas multiresistentes y producir alteraciones del equilibrio de la flora intestinal.

## FLORA INTESTINAL NORMAL

Al igual que en otras localizaciones, el tracto intestinal alberga una gran cantidad de microorganismos que conforman la microbiota intestinal y que viven en una relación de simbiosis o mutualismo, ya que, al mismo tiempo de sobrevivir, aportan muchos beneficios.

Se instalan rápidamente después del nacimiento y su composición está relacionada con el tipo de alimentación que recibe el neonato y posteriormente con el medioambiente, hasta constituirse totalmente y formar un ecosistema complejo que se autorregula para mantenerse en equilibrio. Está influenciada por factores intrínsecos (secreciones intestinales) o extrínsecos (envejecimiento, dieta, stress, antibióticos y alimentos con componentes prebióticos o con organismos probióticos). Se regeneran periódicamente, excretándose las muertas a través de las heces. En el hombre se pueden encontrar hasta 2,000 especies diferentes, de las cuales sólo 100 podrían ser perjudiciales.

El estómago generalmente es estéril, salvo que desaparezca la acidez gástrica. En el duodeno ya se pueden encontrar algunas bacterias y parásitos, lo cual permite diagnosticarlas mediante algunas técnicas como “la cuerda encapsulada”, que asegura el hallazgo de *Giardia* y el diagnóstico de portadores de *Salmonella typhi*. La gradiente bacteriana se va incrementando en los otros tramos del intestino delgado, especialmente el ciego, siendo el colon colonizado por el mayor número y variedad.

Entre los beneficios que aportan se cuenta su participación imprescindible para la síntesis de determinados compuestos, como vitamina K y algunas del complejo B, a tal punto que es necesario suministrar vitamina K, cuando todavía no se ha instalado bien la flora del neonato y así evitar hemorragias. También ayuda en la reabsorción de algunos ingredientes. Su rol más importante es evitar el desarrollo de enfermedades por lo cual se conoce al intestino, como “la cuna del sistema inmunológico”, en primer lugar, porque impide la invasión de gérmenes nocivos previniendo infecciones intestinales y, en segundo lugar, el pequeño porcentaje de bacterias patógenas existentes en el intestino, mantiene en alerta el sistema inmunitario, que estimula la producción constante de anticuerpos.

Los microorganismos que conforman esta flora, pueden catalogarse como:

- (1) **Beneficiosos:** una gran cantidad de bacilos anaerobios Gram-positivos, entre los que se encuentran el *Lactobacillus* y el *Bifidobacterium*.
- (2) **Perjudiciales en “potencia”** que incluye el *Clostridium difficile*, *Proteus*, *Staphylococcus* y levaduras Y
- (3) **Peligrosos:** como los bacteroides y enterobacterias.

Para que estos microorganismos cumplan su rol benéfico, debemos controlar como ya se ha mencionado, los factores externos principalmente el tratamiento con antibióticos que elimina la flora beneficiosa, rompiendo el equilibrio del ecosistema y favoreciendo la proliferación de los gérmenes perjudiciales o peligrosos, que

pueden causar cuadros clínicos muy severos, como la colitis pseudomembranosa. Así mismo se pueden eliminar las cepas sensibles, convirtiendo al intestino en una fuente de bacterias altamente resistentes

Por lo tanto, es recomendable, cuando se utilizan antibióticos o después de un proceso diarreico muy intenso, suministrar al paciente vacunas ya preparadas, que puedan restablecer el equilibrio de la flora intestinal.

## PARÁSITOS EN HECES

Las parasitosis son entidades clínicas que se presentan con relativa frecuencia. Se les considera exógenas porque generalmente se adquieren por ingestión de material contaminado. Están ampliamente diseminadas, pero prevalecen y son endémicas en áreas desprovistas de infraestructura y educación sanitaria, con viviendas precarias, sobrepoblación y pobreza. Es una cadena integrada por:

### POBREZA - IGNORANCIA - ENFERMEDAD

Esto explica su elevada frecuencia en habitantes de áreas tropicales o subtropicales y en el mundo en vías de desarrollo, donde se dan estas condiciones.

Su incidencia es mayor en niños. La sintomatología es variable. Muchas veces son asintomáticas, pudiendo llevar a la cronicidad. Por este motivo, siempre es recomendable efectuar exámenes seriados y en fechas alternas, que puedan asegurar su hallazgo.

Entre las manifestaciones clínicas, se puede observar dolor abdominal, permanente o de tipo cólico. Diarreas intermitentes, a veces con sangre, gases y manifestaciones de dispepsia, pérdida de peso y retardo del crecimiento. En el hemograma, es posible detectar eosinofilia o anemia ferropénica microcítica.

Los enteroparásitos conforman dos grandes grupos: Protozoos o parásitos unicelulares y Helmintos o gusanos.

### Protozoos

Amebas: *Entamoeba histolytica*

Flagelados: *Giardia lamblia*

Coccidios: *Isospora belli*, *Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium* Sp.

Otros: *Blastocystis hominis*

### Helmintos

Nematodos: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichura*, *Enterobius vermicularis* y *Strongyloides stercoralis*.

Cestodes: *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana*.

En nuestro medio se observan todos estos parásitos, variando en incidencia, de acuerdo a la edad y procedencia del paciente. En niños, es más frecuente la *Giardia*, mientras que en el adulto se encuentran: *Entamoeba histolytica*, Tenias y recientemente coccidios: *Cyclospora cayetanensis*.

En cuanto a la procedencia, los parásitos pueden ser más abundantes y variados, si es que se investigan en Lima centro, o en los asentamientos humanos periféricos, variando inclusive de uno a otro, de acuerdo a la situación sanitaria.

Es pues imprescindible efectuar investigación de parásitos, en todas las muestras de heces que se soliciten al laboratorio.

## EXAMEN MICROBIOLÓGICO

Como hemos visto, el diagnóstico etiológico en las infecciones intestinales ha variado ostensiblemente en los últimos años. Las enterobacterias tan frecuentes, han sido desplazadas en un alto porcentaje,

por agentes virales. Esto obedece a las constantes modificaciones a las que está sometida la naturaleza y que debe mantener en estado de alerta a todos los que estudian el habitat de los microorganismos, especialmente a los patólogos clínicos que deben detectar los cambios que se puedan presentar en el diagnóstico microbiológico.

Esta notable alteración nos ha obligado a enfocar el problema desde un punto de vista diferente, que no sólo se dirija al diagnóstico de bacterias y parásitos, sino que englobe todos los elementos que pueden afectar las heces del paciente y que también se puedan relacionar con problemas virales.

Hace algunos años aparecieron algunas pruebas de diagnóstico rápido para Rotavirus. Comenzamos a incluirla en nuestro laboratorio, especialmente en niños, detectando una elevada incidencia de positividad. El hallazgo, cada vez más frecuente, de heces aparentemente patógenas en adultos, en las cuales no encontrábamos un agente etiológico justificable, nos indujo a investigar la presencia de virus, que también arrojó pruebas positivas. A pesar que esta determinación no es infalible y que puede arrojar resultados contradictorios, el hecho que siempre se acompañe de determinados indicadores, nos llevó a investigar otros elementos que se pueden detectar en las heces de estos pacientes. La inclusión de una prueba coprológico-funcional, nos ayudó mucho a determinar, qué variantes se producen en los cuadros de virosis. Así mismo concluimos, que el cultivo de las heces, sólo debe ser efectuado en determinados casos en los cuales se sospeche infección bacteriana.

Esta prueba consiste en determinar aspectos físicos y químicos de las heces, así como un examen microscópico completo, para investigar elementos celulares y parasitarios, y una determinación de Rotavirus. Además de la información múltiple que se obtiene, este procedimiento es muy rápido y puede ser informado en el curso del día, permitiendo al clínico tratar a su paciente adecuadamente, evitando el uso indiscriminado de antibióticos.

## EXAMEN COPRO-FUNCIONAL

### Métodos para la recolección de las muestras

La condición general, es la abstención de la ingesta de antibióticos. No se requiere de una dieta especial, ni estar en ayunas. No se debe mezclar las heces con orina. Las muestras deben ser remitidas al laboratorio, lo antes posible.

Si el paciente es un niño que todavía usa pañales, mediante una espátula se recogen las heces más blandas, o las que tengan moco y sangre y se colocan en un frasco de boca ancha limpio y seco, de preferencia estéril, que puede ser solicitado en el laboratorio. Si las heces son líquidas y las absorbe el pañal, se puede colocar alrededor del ano, una bolsa colectora de orina, o un pañal descartable al revés. En cualquier caso, se trasvasan las heces al frasco y se llevan al laboratorio inmediatamente.

Si hubiera dificultad en un niño pequeño, se debe llevar al paciente al laboratorio, colocarlo en una camilla y rotar una torunda húmeda dentro del recto, para estimular la defecación. Se aconseja al personal que realiza el procedimiento, tomar precauciones porque a veces las heces emergen en forma explosiva y las consecuencias, no son muy simpáticas.

Si el paciente es adulto o un niño mayor, se efectúa la deposición en un recipiente limpio y seco (bacín o chata) y mediante una espátula o una cucharita descartable, se procede a colocar una parte de las heces en el frasco indicado, tratando de escoger las partes más patológicas y evitando siempre la mezcla con orina.

Si se observan parásitos expulsados a través del recto, se deben colocar en un frasco limpio y con alcohol, para que se preserven, hasta llevarlos al laboratorio

### *Características físicas*

Debemos observar el **aspecto**: las heces normales son formadas, pero en caso de alteración, ya sea dietética o relacionada con infección, se presentan pastosas o francamente líquidas. Determinar si se

encuentra moco o sangre, presencia de gases o abundantes restos alimenticios. Descartar elementos parasitarios. El **olor** es suigéneris y está en relación con la alimentación o la microbiota. En algunos procesos infecciosos, especialmente virosis, el olor es típico, muy fétido como agua de desagüe. El **color** habitual es marrón, que está condicionado por el urobilinógeno, pero puede variar con la dieta y teñirse de color rojo, confundiendo con sangre. Es el caso de la betarraga o colorantes en gelatinas, caramelos o inclusive jarabes pediátricos.

### *Pruebas bioquímicas*

**Determinación del pH:** las heces normales o en algunas infecciones bacterianas, son neutras o ligeramente alcalinas. Se presenta acidez, cuando por un problema de absorción o por una aceleración del tránsito intestinal, no se absorben los azúcares reductores que al fermentar, liberan ácido láctico, ácido acético o ácidos grasos de cadena corta, que bajan el pH ostensiblemente. Se observa en infecciones virales o alteraciones funcionales.

**Sustancias reductoras:** Permite determinar la presencia de disacáridos: glucosa o lactosa, debido generalmente a mala absorción o problemas funcionales. Se relacionan con pH ácido. Se determinan mediante el empleo de Glucocintas, o efectuando el Test de Benedict.

**Sangre oculta:** La sangre que se puede visualizar directamente en las heces, procede del tracto intestinal inferior: hemorroides, úlceras sangrantes o infección de la parte distal. La presencia de sangre en el tracto superior, que puede deberse a várices esofágicas, úlcera péptica, carcinoma de colon, colitis ulcerosa o disentería, no se ve a simple vista y debe detectarse mediante pruebas para "sangre oculta". Se recomienda no ingerir carnes rojas por lo menos 3 días antes y repetirla durante 3 días diferentes. El más utilizado es el "Test de Thevenon", que últimamente ha sido reemplazado por el "Test de Thevenon Inmunológico", que aparentemente es más sensible y no requiere dieta previa.

### *Estudio microscópico*

#### *Examen en fresco:*

Se efectúa mediante el estudio en lámina de una suspensión de heces. La preparación debe realizarse empleando suero fisiológico y lugol, que se comporta como un colorante vital. Hacer observaciones microscópicas a menor y mayor aumento, para detectar presencia de **reacción inflamatoria**, o sea leucocitos, tratando de determinar aproximadamente su cantidad, así como su morfología: polimorfonucleares o mononucleares y la proporción que se encuentra entre ellos. En los procesos virales, generalmente son escasos y mononucleares, mientras que en los bacterianos, son abundantes, con gran predominio de polimorfonucleares y pueden acompañarse de hematíes. El incremento de **grasa neutra** se demuestra con la observación de gotas redondeadas, refringentes y de tamaño variable, que se visualizan fácilmente mediante el reactivo Sudán III. Es importante reportarlas porque pueden encontrarse en problemas de mala absorción, pero también en ausencia de enzimas pancreáticas como en la fibrosis quística. Al examen directo, también se puede visualizar: aumento de restos celulósicos, de levaduras y de flora yodófila de putrefacción, que se tiñe muy bien con el Lugol.

**Investigación de parásitos**, es fundamental: en el suero fisiológico se pueden observar con claridad las formas vegetativas, tanto en su morfología, como en su movilidad: amebas, giardias, larvas de strongyloides. Para ello, la microscopía debe ser efectuada a la brevedad posible, ya que con ningún otro método se podrán diagnosticar las formas móviles. En la lámina de lugol, los parásitos están fijados, pero nos permite visualizar perfectamente la estructura de huevos y quistes, que se tiñen con el yodo. **La investigación de parásitos**, debe ser completada con técnicas de enriquecimiento que deben detectar los parásitos, que al estar en pequeña cantidad, no se hayan visto al examen directo. Existen numerosos métodos de concentración, basados en procedimientos de flotación, de sedimentación o combinación de ambos. Cada laboratorio debe emplear el que sea más adecuado a sus facilidades técnicas. En niños, el examen debe complementarse con la investigación de Oxiuros o **Técnica de Graham** para determinar la

presencia de huevos de *Enterobius vermicularis*, muy frecuente y contagiosa en niños. Consiste en colocar un pedazo de cinta engomada o cinta Scotch en la superficie de una lámina porta objetos. Indicar, que en la mañana, cuando el paciente despierta y antes que se levante ni haga ninguna necesidad, flexione las piernas y exponga la región anal. Despegar la cinta y aplicar la zona de pegamento en la región perianal, tratando de recoger los huevos que generalmente la hembra pone durante la noche. Vuelva a pegar la cinta en la lámina, con cuidado para que esta no se rompa, y lleve al laboratorio. Se observa al microscopio y se descarta la presencia de huevos, después de revisar toda la lámina.

#### *Examen microscópico en láminas coloreadas*

Las técnicas de coloración no tenían mayor utilidad en los exámenes de heces, hasta que se introdujo un método que permitió visualizar nítidamente el *Campylobacter* Sp. en láminas coloreadas. La coloración, a base de cristal violeta y lugol, efectuada en frotis muy delgados de heces emulsionadas en una pequeña cantidad de suero fisiológico, fue un gran avance en el diagnóstico de esta bacteria, que afecta con frecuencia a niños pequeños, produciendo diarrea con moco y sangre. El cultivo es laborioso y el desarrollo muy lento, por lo que contar con un resultado inmediato, permite iniciar el tratamiento establecido a la brevedad posible, por lo menos antes de 4 días de instalado el proceso que es el período en que surte efecto. Si no se lleva a cabo, habrá que esperar hasta que se limite solo y sin tratamiento, lo cual puede suceder en varios meses, hasta que madure el sistema inmunológico. El niño continuará con las heces patógenas, pero sin alteración de su estado general.

Inicialmente la coloración sólo la utilizábamos en niños, para la detección de *Campylobacter*. Cuando se instaló en Lima la epidemia del cólera, también nos ayudó en el diagnóstico rápido del *Vibrio*, por lo que la incluimos en la rutina diaria. Para nuestra sorpresa, varios años después, nos permitió hacer el diagnóstico de un parásito emergente, la *Cyclospora cayetanensis*, que veíamos en fresco en las heces y mediante esta coloración, llegamos a identificarlo como una coccidia, que se instaló en Lima y asentamientos humanos y se ha vuelto endémica.

Existen varias técnicas de coloración que se emplean específicamente en parasitología y permiten observar nítidamente, la estructura interna de quistes y huevos. Los colorantes en general ayudan también en el estudio de los leucocitos y permiten diferenciar los mononucleares de los polimorfonucleares, concepto importante para diferenciar infecciones bacterianas y virales.

Otros elementos que se pueden visualizar son, levaduras, cuando están muy incrementadas indicando una alteración de la flora y también abundantes bacilos largos y delgados, que pueden corresponder a gérmenes anaerobios de putrefacción que generalmente también aumentan por disbacteriosis.

#### *Test de Rotavirus*

Es una prueba rápida que se efectúa rutinariamente. Las heces son emulsionadas en un buffer especial, centrifugadas y el sobrenadante se mezcla en una lámina, con un reactivo que contiene los anticuerpos específicos. Todos los elementos vienen en un set comercial, que también incluye controles positivos y negativos. La finalidad es detectar el antígeno viral específico, mediante una prueba de inmunoensayo (Elisa). La presencia de floculación, que generalmente aparece rápidamente, indica un resultado positivo, comparable al control.

Después de efectuar todas estas pruebas comprendidas dentro del examen copro-funcional, se puede emitir el informe y el clínico va a poder llegar rápidamente al diagnóstico definitivo o de presunción, en la mayor parte de casos.

#### *Cultivo de las heces*

La finalidad de este examen es aislar e identificar el agente causal en las infecciones bacterianas del tracto intestinal, pero ante los cambios tan significativos que se han presentado en la etiología de las diarreas,



se debe evaluar su importancia. ¿Es necesario hacerlo rutinariamente cuando las posibilidades de aislar bacterias, es poco probable? Nosotros pensamos, al igual que otros patólogos, que antes, debe hacerse un análisis completo de los hallazgos detectados en el examen copro-funcional. El elemento definitorio para efectuar el coprocultivo, es la presencia y tipo de reacción inflamatoria. La observación de abundantes polimorfonucleares, que inclusive pueden acompañarse de hematíes, es mandatorio para la realización del cultivo y aislamiento de bacterias. Generalmente en las virosis, los leucocitos no se encuentran o pueden ser escasos y de tipo mononuclear.

Si después de analizar las pruebas preliminares llegamos a la conclusión que debe hacerse el cultivo, las heces deben ser sembradas inmediatamente. Si se cree que han transcurrido más de 2 horas, se solicita nueva muestra. El aislamiento se efectúa en placas con inhibidores, para garantizar el aislamiento exclusivo de bacilos gramnegativos. También se emplean medios líquidos de enriquecimiento, que serán resembrados en placas, a las 24 o 48 horas, para asegurar el desarrollo de bacterias patógenas que estén en poca cantidad. La lectura al día siguiente, permitirá escoger colonias sospechosas, que serán sometidas a diferenciación bioquímica. Así mismo se evaluará, la presencia o ausencia de flora normal. Las pruebas efectuadas deben ser examinadas por el tipo de reacción y si sugieren ser Salmonellas, Shigellas o algún tipo patógeno de *E. coli*, serán finalmente catalogadas mediante el empleo de antisueros específicos. Es conveniente efectuar el antibiograma a las bacterias aisladas e identificadas plenamente, para poder instaurar el tratamiento adecuado. El informe debe incluir los datos preliminares del estudio microscópico y pruebas bioquímicas, el nombre del germen aislado y su sensibilidad a los antibióticos, así como la presencia y composición de la flora normal.

## PREVENCIÓN Y RECOMENDACIONES GENERALES

La gran incidencia de diarrea infecciosa y de mortalidad infantil que estas causan, es prevalente y endémica en áreas desprovistas de infraestructura sanitaria, con sobrepoblación y viviendas precarias, producto de la pobreza e ignorancia de la población.

La primera medida que debe ser asumida por las autoridades, es asegurar la disponibilidad de agua potable a todo nivel y disponer los recursos sanitarios indispensables para asegurar el saneamiento ambiental.

Entre las previsiones sanitarias que deben ser aplicadas, tiene prioridad la potabilización del agua, tanto de consumo humano como la que se emplea para el riego de los sembríos y así evitar la contaminación fecal del suelo y alimentos. Se deben eliminar adecuadamente las excretas, la basura y desechos.

Es necesario combatir la desnutrición mediante programas que permitan no sólo contar con los recursos económicos adecuados, sino enseñándoles a contar con una dieta balanceada que pueda cubrir las necesidades nutricionales. En algunos lugares, especialmente en la sierra, los lugareños crían ganado y aves, siembran frutales y hortalizas, sin embargo no toman leche, ni comen huevos ni carne de res y las frutas maduras se caen de los árboles y las come el ganado. Su dieta es exclusivamente a base de harinas y todo lo demás lo venden en los pueblos. Por supuesto uno se pregunta si en realidad este negocio les sirve para subsistir, pero creo que podrían disponer una parte para su alimentación, que los nutra y les permita defenderse de las enfermedades y tener un mejor rendimiento intelectual. Habría que profundizar la causa de esa desnutrición y determinar en qué casos es realmente por falta de recursos o por desconocimiento.

Además de mejorar el saneamiento ambiental, se debe impartir educación sanitaria, inculcando mejoras en los hábitos de higiene personal. Es primordial el lavado de manos con agua y jabón, antes de consumir los alimentos, así como después de hacer las deposiciones o cambiar los pañales a un niño. El área de preparación de los alimentos debe ser lavada y desinfectada previamente, con soluciones de hipoclorito de sodio (lejía), una cucharada para un litro de agua. Las legumbres y frutas que se coman sin cocer, deben ser lavadas prolijamente e inclusive, peladas. Es recomendable hervir el agua para consumo, aunque sea potable.

Si se presenta diarrea en un familiar en casa, o en un paciente en una guardería, casa de reposo o en cualquier ámbito que albergue varias personas, se deben extremar las medidas de seguridad para evitar la propagación del cuadro, que muchas veces se debe a gastroenteritis aguda producida por virus, que son muy contagiosas. Los niños no deben concurrir a la escuela, o bañarse en piscinas, por lo menos hasta una semana después que se haya limitado el proceso. Muchas veces el agente infeccioso se sigue excretando, aunque se haya limitado el cuadro clínico, convirtiéndose en un foco de contagio.

Es importante consultar al pediatra o al centro de salud, sobre la carta de vacunación y estar al tanto de las nuevas dosis que se deben recibir y de la aparición de nuevas vacunas.

Estas son las medidas que “deben” tomarse, para evitar contraer infecciones gastrointestinales y su posterior propagación en la población. Sin embargo “deber” no es igual que “poder” y se dan muchas condiciones, salvo en países con elevado índice socioeconómico y cultural, que impiden su aplicación. Es el caso de nuestro país, que carece de casi todos los recursos básicos. Empezando por el agua, tan difícil de conseguir en muchas regiones departamentales e incluso en barrios pobres de Lima, la capital. Cómo poder pedirles a los pobladores que mejoren su higiene personal y que se laven las manos con frecuencia, si el agua debe comprarse en camiones cisterna, después de hacer largas colas si a duras penas les alcanza para cocinar y lavar la ropa, porque sólo viene dos o tres veces por semana?. En muchos distritos que sí, cuentan con agua potable, ésta es suministrada por unas cuantas horas al día y a veces no todos los días. Esto obliga a almacenar agua, lo cual también es un riesgo porque el agua estancada favorece la proliferación de gérmenes y es un ambiente ideal para hospedar insectos portadores de virus muy peligrosos.

A esto se suma la sobrepoblación, las viviendas precarias que carecen de letrinas, el riego de los cultivos con agua contaminada. El difícil acceso a la educación, que todavía es tan limitada, que algunos, inclusive con instrucción completa y que han sido los primeros alumnos de su aula, no saben dónde quedan los países que juegan en el mundial de fútbol, o creen que en África todavía existen dinosaurios.

Estas son nuestras grandes limitaciones y por más que en muchos casos, buenas autoridades tratan de solucionarlas, nos damos cuenta que todo gira alrededor de los recursos económicos y mientras exista tanta pobreza, nuestro país será insalubre y sólo destacaremos por la elevada incidencia de procesos infecciosos gastrointestinales y la gran mortandad que estos generan.

## COMENTARIOS Y DISQUISICIONES

Estudiar la microbiología de las heces y todas sus implicancias, nos ha sumergido en la vorágine de los cambios que se producen en la naturaleza y en este caso específicamente, en el terreno de la biología. Paralelamente nos demuestra los grandes avances científicos y tecnológicos que se han alcanzado, con los cuales hemos podido comprender y al mismo tiempo vislumbrar lo que nos trae el futuro. Si parece ayer, cuando a mediados del siglo pasado, se pensaba en nuestro medio, que todas las infecciones gastrointestinales eran producidas por parásitos en general y amebas, en particular.

Las grandes modificaciones se iniciaron cuando se conocieron las bacterias, las cuales eran responsables, no sólo de mantener un equilibrio ecológico en el intestino, sino de ser el agente etiológico de gran variedad de procesos infecciosos, integrando así la gran familia de las Enterobacterias. Los numerosos estudios efectuados, permitieron determinar sus propiedades bioquímicas, su estructura antigénica, su capacidad para producir gran variedad de infecciones extra intestinales y su gran adaptabilidad a los medios adversos, mutando genética y estructuralmente, lo cual ha sido patente en la aparición de cepas resistentes a cada uno de los antibióticos que aparecían “en el mercado” para combatirlas, lo cual ha condicionado fracasos rotundos en los esquemas terapéuticos. Incluso han llegado a generar severas epidemias mundiales, por variantes muy resistentes y poco frecuentes, como la *Salmonella newport*, que durante varios años infectó las salas de recién nacidos, causando muchas muertes, difíciles de diagnosticar y tratar.

Durante todos estos años, se han presentado paralelamente, otras bacterias. Unas se quedaron, como el *Campylobacter jejuni* y otras fueron episódicas, como la gran epidemia del *Vibrio cholerae*, que causó muchos estragos, pero se limitó gracias al manejo eficiente del Instituto Nacional de Salud. Así mismo se puede mencionar el hallazgo ocasional de *Vibrio parahaemolyticus* que puede producir diarreas veraniegas, en el litoral.

Cuando creíamos que ya estábamos capacitados para aplicar un esquema diagnóstico definido en las infecciones del tracto intestinal, vimos con sorpresa la aparición de una serie de cuadros clínicos, algunos bastante serios especialmente en niños, que además de la diarrea patológica, se acompañaba de alteración del estado general y vómitos que podían llevar a deshidratación severa, e inclusive ser fatal en desnutridos o inmunodeprimidos. Pero, lo que más nos desconcertó fue que ni desde el punto de vista microscópico, ni en los cultivos efectuados, se pudo observar ni aislar un agente patógeno conocido, que fuera el causante del proceso.

La evolución del cuadro clínico, que generalmente se limitaba solo, la ausencia de casos similares anteriores y la investigación bibliográfica, nos llevó a suponer que se trataba de infecciones virales.

Mediante el examen coprofuncional, constatamos que la gran mayoría de casos presentaban un esquema similar. El aspecto de las heces: amorfas o francamente líquidas, sin moco ni sangre y con un olor fétido característico, como a desagüe. El pH ácido e incremento de sustancias reductoras. En la microscopía, ausencia o escasos leucocitos de tipo mononuclear y en las láminas, especialmente en las coloreadas, un notable incremento de levaduras y abundantes bacilos finos, gram-positivos, que sugieren la presencia de anaerobios causada por la elevada aceleración del tránsito intestinal y que explican el olor fétido de las heces. El test para Rotavirus, siempre fue **positivo**.

La incidencia de virosis fue incrementándose significativamente, no sólo en la población infantil sino también en adultos, especialmente personas mayores, que no presentan cuadros tan severos, pero sí muy persistentes y recidivantes. En los más jóvenes, en cambio, los síntomas pueden ser también muy severos, pero se limitan rápidamente.

Paralelamente, a la gran incidencia de virus, constatamos la disminución notable de los otros integrantes de la patología intestinal, especialmente las bacterias que siempre habían sido los agentes causales, así como una alteración severa de la flora intestinal que obliga a administrar vacunas reparadoras que ayudan mucho en el tratamiento y acortan la duración del proceso.

Esta situación realmente nos sorprendió. Lamentablemente, a pesar de no poder culminar una investigación que estábamos efectuando para determinar estadísticamente el porcentaje exacto de incidencia de los patógenos intestinales, de acuerdo a la edad y procedencia, los hallazgos del laboratorio que veíamos cada día, nos llevó a enfrentar una realidad incuestionable: el aislamiento de salmonellas y shigellas era tan infrecuente, que podíamos enumerarlas. En el último año, escasas shigellas aisladas en niños que tuvieron heces disintéricas con moco, sangre y abundantes leucocitos polimorfo nucleares. No recuerdo ninguna salmonella y sí, varios casos de *Campylobacter* en niños pequeños, que además también tuvieron virosis. La situación así presentada, me obligó a responder a un colega que mostró su incredulidad, que “hoy por hoy, la mayor parte de diarreas en pacientes de 1 mes a 90 años, son virales”.

A esto se podría objetar, con justicia, que en un laboratorio que sólo atiende pacientes privados y en número limitado, difícilmente se pueden sacar conclusiones. Sin embargo, obtuvimos los mismos resultados en pacientes de otros estratos socio económicos y de diferentes lugares del país, a pesar de no ser numerosos. Nos alegra mucho saber que pediatras en las postas médicas y consultorios privados de las zonas periféricas, diagnostiquen clínicamente las diarreas de los niños como virales y no les receten antibióticos, sino sólo soluciones rehidratantes y eventualmente vacunas.

Lamentablemente, no pudimos continuar estudiando este problema. Corresponde a nuestros sucesores, seguir esta investigación que marca un hito tan importante en la etiología de las diarreas. Quedan muchas

interrogantes entre las que destacan, si este problema también se observa en otros centros. Si en verdad estas virosis también se están presentando en otras edades, no sólo en niños y adultos mayores como siempre se pensó. Si los otros agentes etiológicos, antes tan frecuentes, están disminuyendo o desapareciendo. Si efectivamente todas las diarreas virales son producidas por Rotavirus a pesar de la existencia de otros virus intestinales. El único test que hemos utilizado en nuestra rutina fue el de Rotavirus, que sin embargo arrojó positividad en todos los casos sospechosos de virosis, ¿cuál sería la explicación?

Consultando los informes más recientes a nivel mundial, comprobamos que también sindicaron a los virus como la etiología más frecuente de las diarreas infecciosas, y entre ellos al Norovirus, como al causante del 50% de brotes epidémicos, en los países desarrollados. El 2015 se reportó en Estados Unidos, una epidemia de gastroenteritis producida por este virus, que afectó al 90% de la población. Reportes de otros países, como Puerto Rico, México y Chile, refieren el aislamiento de Rotavirus en menor porcentaje que el de Norovirus, salvo en infantes, en los que se sigue considerando más importante, por su mayor severidad, complicaciones y mortalidad.

Hay poca mención sobre otros agentes enteropatógenos y generalmente la incidencia de bacterias se circunscribe a niños pequeños, en los que describen el *Campylobacter*, diferentes tipos de *E. coli* patógena, especialmente entero hemorrágica y *Shigella*, sin mencionar su porcentaje en relación con los virus. En el adulto mayor, se mencionan principalmente el Norovirus y el *Clostridium difficile*.

En nuestro país, hemos encontrado información proporcionada por el MINSA, que evalúan la incidencia de infecciones intestinales en general, en cuatro regiones del Perú, con resultados muy disímiles, pero útiles desde el punto de vista epidemiológico. Algunas cadenas de laboratorios particulares, hacen referencia al empleo de técnicas modernas de diagnóstico viral en heces.

En un diario muy difundido en nuestro medio, se informó sobre un brote epidémico de gastroenteritis, en 3 alumnos de un colegio en La Molina, producido por un nuevo virus, el Norovirus. Durante varios días, se aterrorizó a la población, comunicando la gravedad del proceso y las medidas a tomar para no contagiarse. Después, le echaron tierra y todo el mundo se olvidó del asunto.

Trabajos más serios, fueron realizados en algunos centros militares y en un internado de cadetes de La Naval, donde se presentaron brotes epidémicos de Norovirus, muy bien documentados y estudiados con técnicas inmunológicas muy confiables.

En el Instituto de Medicina Tropical, de la Universidad Cayetano Heredia, se hizo un estudio de la incidencia de agentes patógenos en dos grupos de niños, de 0 a 12 meses y de 2 a 24 meses, en zonas periféricas. En el primer grupo el *Campylobacter*, se encontró en 18.6% y en el segundo, 10.6%. *E. coli* de tipo patógeno, 29 y 28%, respectivamente. *Shigella*, 0.1 y 6.6%. Rotavirus, 17.2 y 3.9% y Norovirus, 17.4 y 35%. Resultados muy interesantes, ya que se trata de una población a nivel comunitario. Lamentablemente no se extendió a otras edades, pero demuestra claramente la diferencia en la etiología según la edad. Discuten las autoras si la marcada disminución del Rotavirus en el segundo grupo etario, podría deberse a la vacunación contra estos virus, aplicada a los niños en los primeros meses de edad.

Como ya expusimos, la imposibilidad de culminar nuestra propia encuesta, no nos permitió llegar a conclusiones definitivas. Lo que sí se constató, en las publicaciones revisadas, fue la elevada incidencia de virosis en todos los estudios presentados. Los otros patógenos, especialmente bacterianos, variaron de acuerdo a la edad y procedencia.

Con el tiempo, nos llamó la atención encontrar que todos nuestros casos presentaban reacción fuertemente positiva al Rotavirus, que era la única prueba que utilizábamos, mucho más cuando supimos que también se mencionaba otro: el Norovirus. Sin embargo el cuadro clínico que describían en esta nueva virosis, no era compatible con nuestros casos, especialmente en la descripción clásica de brotes epidémicos que se presentaban en locales cerrados y habitados por grupos definidos de personas, que se contagiaban fácilmente por contacto directo. Como ya se comentó, inicialmente, el diagnóstico de este virus sólo se

podía efectuar en laboratorios equipados adecuadamente, para realizar técnicas inmunológicas muy sofisticadas. Actualmente, se describen técnicas rápidas y simples para aplicación en laboratorios de rutina, pero llegaron demasiado tarde para nosotros. Inclusive mi curiosidad me tentó a enviar una muestra de control a un laboratorio que pudiera hacer el diagnóstico y sacarme de la duda, pero no se pudo.

Por otro lado, también existen serias dudas con el Rotavirus. Es conocida la gran variedad de grupos antigénicos que posee y que además son prevalentes en cada región. Tuvimos una experiencia interesante: nosotros empleábamos un reactivo chileno que en una ocasión estaba agotado en el laboratorio que lo expendía. Ante la premura por no dejar de efectuar la prueba, solicité a un colega me proporcionara transitoriamente, el que él usaba. Grande fue la sorpresa cuando constatamos que, heces que cumplían los requisitos de ser virosis, daban pruebas negativas. El nuevo reactivo era alemán y llegamos a la conclusión que era probable que no contenía los serotipos prevalentes en nuestro medio, a diferencia del chileno elaborado en nuestra misma región. Este hecho fue comprobado cuando volvimos a usar el primer reactivo y lo comparamos con el otro que nos había sobrado. Los resultados fueron distintos: positivo el chileno y negativo el alemán, en casos totalmente sugestivos de ser Rotavirus. ¿Estaríamos en lo cierto?

Cuando se comenzó a considerar el empleo de una vacuna contra esta virosis, yo estuve muy escéptica, porque había comprobado que el cuadro clínico podía repetir. Inclusive uno de mis nietos, tuvo Rotavirus 6 veces, algunas leves y otras severas que requirieron hidratación parenteral. Los cuadros fueron diagnosticados por su pediatra, muy competente por cierto y confirmados en nuestro laboratorio. Mi opinión entonces fue que, si un paciente no se inmuniza con su propia enfermedad, no habría vacuna que lo haga. La explicación fue nuevamente el numeroso grupo de tipos antigénicos, que por supuesto no pueden ser incluidos en una vacuna. Al igual que todavía no se puede elaborar tratamientos preventivos, contra los numerosos grupos de virus que causan el resfrío común, o la hepatitis C. Pero, la vacuna está allí y como involucra los tipos del Grupo A, que son los más virulentos, se sostiene que se han limitado los casos más peligrosos, disminuyendo la morbilidad y la mortalidad.....

Amparada en estas observaciones, llegué a pensar que quizás serían otros los grupos genéticos de Rotavirus que podrían producir patología en adultos, pero francamente tengo mis dudas. Es el Norovirus? Pero porqué el reactivo da pruebas positivas a Rotavirus todo el tiempo?. Estará alterado o da reacciones cruzadas?. Por otro lado, el Norovirus efectivamente está descrito como causa de diarreas en niños mayores y adultos y lo están confirmando con el empleo de la prueba rápida y de uso en el laboratorio de rutina, aunque sostienen que su sensibilidad es limitada. Para complicar más las cosas, se ha mencionado al Astrovirus, como causante de diarreas en adultos.

Como vemos todavía falta mucho por investigar en este campo. Lo único que está claro es que ahora son virus los patógenos intestinales más frecuentes, no sólo en esta patología, sino también en vías respiratorias, en el tracto genital, en la piel y en todas las nuevas epidemias que aparecen. Si bien es cierto que muchas infecciones virales evolucionan satisfactoriamente y se auto limitan, otras son muy peligrosas. Ante una situación así, sabiendo que todavía no existe un tratamiento específico que los elimine, con el temor que produzcan grandes epidemias devastadoras y con su mentada vinculación, no demostrada, con el cáncer, lo que queda por hacer es concientizar a las poblaciones que puedan hacerlo, para que adopten medidas generales que puedan evitar contraer y propagar estas infecciones.

En el área médica, lo único que se puede hacer hasta el momento, es reconocer la existencia de estas enfermedades y sus agentes etiológicos, para evitar el empleo innecesario y hasta peligroso de antibióticos. Aprender a diagnosticarlas adecuadamente y manejarlas desde el punto de vista clínico y epidemiológico para evitar su propagación, implantando las medidas profilácticas necesarias, incluyendo la aplicación de todas las vacunas existentes.

En el campo de la investigación es donde deben concentrarse todos los esfuerzos posibles para llegar a conocer estas entidades, desde su estructura hasta la patología que producen. La finalidad más importante es producir las vacunas que puedan evitar que se instale la infección. Existen ya experiencias importantes en muchas infecciones virales muy agresivas, en que con la aplicación de la vacunación específica no sólo se ha logrado evitar el proceso, sino su desaparición. Entre ellos se encuentran la poliomielititis, las

enfermedades eruptivas en los niños, las hepatitis A y B y muchos más, que han significado un gran avance en la epidemiología y en medicina en general. En otras virosis, como en el SIDA, se han introducido medicamentos que ayudan a neutralizar el efecto patógeno, permitiendo sobrevivir mientras se utilizan, convirtiéndolos en portadores. Se están efectuando muchos estudios para lograr obtener una vacuna que prevenga esta enfermedad tan severa.

Es muy importante que, especialmente a edad temprana, todos los niños cuenten con una cartilla cronológica de todas las vacunas que deben recibir, porque si algunos no lo hacen, se corre el riesgo que enfermen y puedan contagiar a los que todavía no han recibido la vacunación, produciendo nuevamente un brote epidémico que altere todo el esquema de profilaxis. En algunos grupos religiosos, por fanatismo o ignorancia, algunos padres se niegan a que sus hijos sean vacunados. Por eso es necesario mantener las campañas de vacunación haciendo conocer a la gente, su importancia.

Como ya hemos comentado, existen virus que poseen muchos grupos antigénicos, lo cual dificulta preparar una vacuna específica. Además, muchas epidemias nuevas, están producidas por variantes de un virus ya existente, que alteran su estructura y adquieren gran virulencia al establecerse en una comunidad que no posee inmunidad específica contra ellos. Los científicos están investigando y nosotros debemos colaborar en lo posible, implementando adecuadamente nuestros laboratorios y preparándonos tanto en la teoría como en la práctica, para poder evitar que los virus nos ganen la batalla.

## PRIONES - NUEVOS AGENTES INFECCIOSOS

Pero los cambios que se presentan en la naturaleza, no dejan de sorprendernos. A fines del siglo pasado, se presentó en el Reino Unido una epidemia que afectaba al ganado vacuno y por el cuadro clínico que producía, fue nominada como "Mal de las Vacas Locas". Es una enfermedad degenerativa cerebral que ataca a estos animales a los 4 o 5 años de edad, dando manifestaciones neurológicas en forma de incoordinación motora, ataxia o inestabilidad y apatía que los lleva progresivamente a la muerte, después de 6 meses.

Esta epidemia fue detectada en Gran Bretaña, Irlanda, España y Portugal, presentándose algunos cuadros en otros países europeos. Se determinó que se había cambiado la dieta y las vacas, que siempre se habían alimentado en pastizales, habían consumido despojos de carne de otros vacunos, ovejas o cabras, que aparentemente habrían estado enfermos o incubando el mismo mal. Ganaderos europeos ya habían descrito un mal parecido en el Siglo XVIII, que afectaba a ovejas o cabras y que aparentemente, también presentaban síntomas neurológicos, por lo que la conocían como "tembladera".

Cuando se quiso determinar la etiología de este proceso, no fue posible encontrar la causa específica. Después de muchos estudios, a la comunidad científica no le quedó otra solución que aceptar la existencia de un agente infeccioso completamente nuevo, PROTEINAS, o sea partículas proteicas infecciosas y transmisibles, patógenas tanto para el hombre como para los animales. En 1982, fueron denominados PRIONES, por Stanley Prusiner, que combinó las palabras proteína e infección, derivadas del idioma inglés. Estos son pues, proteínas patógenas que tienen alterada su estructura y a diferencia de bacterias, virus u hongos, no presentan material genético y sólo están compuestos por aminoácidos. Este hecho derrumbó una idea que se mantenía como un dogma por muchos años: las infecciones sólo pueden ser transmitidas por organismos dotados de ácido nucleico, o sea que una infección se explica por la multiplicación de la información genética (ADN-ARN) de un agente invasor en otro invadido.

Los priones son las únicas partículas infecciosas que contradicen el dogma central de la biología: No poseen ADN ni ARN.

Carecen de cuerpos de inclusión; cuando infectan lo hacen después de un período de incubación prolongado (meses o años), y tienen un curso crónico y progresivo, provocando la muerte; no producen reacción inflamatoria ni generan respuesta antigénica; no son visibles en el microscopio electrónico. Son muy resistentes, difíciles de destruir por mecanismos inmunológicos o de esterilización tradicionales.

## MECANISMOS DE ACCIÓN

En muchas células epiteliales sanas de diferentes órganos, como en el bazo, pulmones, músculo esquelético, epitelios secretores y especialmente en el citoplasma de las neuronas, existen proteínas naturales, conformadas por más de 250 aminoácidos que constituyen una cadena lineal y que cumplen una función normal, por lo que son consideradas como benignas. Cuando ingresa al organismo una proteína procedente del tejido de un animal enfermo, ya sea por ingesta de carne infectada o por recibir trasplantes o transfusiones, se le denomina “prion maligno”. Este, entra en contacto con uno normal “prion benigno” y retuerce la cadena lineal de aminoácidos, desnaturalizándolos y perdiendo su funcionalidad. El prion alterado, hace lo mismo con un tercero y así, las proteínas desnaturalizadas se van acumulando en vesículas y vacuolas celulares de tipo amiloideo, hasta producir la ruptura y muerte de la célula. Poco a poco, todo el cerebro va adoptando una estructura mieloide, cuya histología se puede visualizar al microscopio. Cuando ya el proceso está más avanzado, el cerebro adopta la forma de una esponja, por lo que esta entidad también recibe el nombre de “encefalitis esponjiforme”. Este proceso que se presenta con lentitud, explica la evolución tan prolongada de la enfermedad y la aparición progresiva de los síntomas de deterioro mental.

## ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR PRIONES

### En animales:

**Scrapie o “tembladera”**, fue la primera en ser observada por ganaderos europeos, en ovejas y cabras. Los animales mostraban un fuerte prurito en la región lumbar, que los obligaba a rascarse, mostrando gran excitabilidad. Además, pérdida de apetito y síntomas de falta de equilibrio, hasta su muerte después de 5 a 6 meses.

**Encefalitis Espongiforme Bovina (EEB). O enfermedad de las vacas locas.** La aparición en Inglaterra y otros países europeos de una gran epidemia del ganado, que se presentó con síntomas de degeneración encefálica progresiva y que causó un elevado índice de mortalidad, fue la que determinó las exhaustivas investigaciones sobre la etiología de la enfermedad. Este problema no sólo afectaba el área de la epidemiología, causando gran pánico entre la población consumidora de carne y productos lácteos, sino también a la economía del país, que se vio sumamente golpeada. Fue así, que después de muchas investigaciones y sorpresas por no encontrar un agente etiológico identificable, (pensaban en un virus), mediante el empleo de estudios histológicos e inoculaciones en ratones, que resultaron receptivos, Prusiner llegó a la conclusión que se hallaban frente a un nuevo agente infeccioso, que no era nada menos que una “proteína”. Por supuesto que la comunidad científica rechazó inicialmente el hallazgo y sólo lo aceptaron cuando se demostró que era una realidad patente, que le valió a Prusiner, recibir el Premio Nobel de Medicina unos años después. Estudios posteriores permitieron definir al Prion, como el agente causante de numerosos cuadros de encefalitis degenerativa, tanto en humanos como en animales, incluyendo el scrapie de ovejas y cabras.

### En humanos:

**Kuru:** Durante muchos años, en grupos tribales de Papúa y Nueva Guinea, se describió la existencia de una encefalitis degenerativa que llevaba indefectiblemente a la muerte. Los aborígenes mantenían prácticas de canibalismo y era un ritual ingerir el cerebro de los muertos, para perpetuar su alma. Las mujeres eran las que se encargaban de cumplir este acto y antes de comer los tejidos, los machacaban y frotaban en su cara, así como en la de sus hijos pequeños, de allí la mayor frecuencia en mujeres y niños. La incidencia de esta infección, que ellos denominaban Kuru, desapareció cuando se eliminaron estas prácticas.

**Enfermedad de Creutzfeld Jacob (CJD):** Este cuadro clínico es conocido desde hace muchos años, como una enfermedad degenerativa del cerebro. Los primeros síntomas aparecen alrededor de los 60 años, se inicia con pérdida paulatina de la memoria, demencia y trastornos conductuales, alteraciones visuales que llevan a la ceguera, ataxia, falta del equilibrio. Disartria y mutismo total, movimientos involuntarios, debilidad

muscular y coma, que llevan a la muerte después de 1 a 2 años. En 1996, se presentó en Gran Bretaña, una nueva variante de esta enfermedad, con los mismos síntomas, pero en personas más jóvenes, promedio 27 años y también con una evolución más rápida que lleva a la muerte en aproximadamente 14 meses. Este brote fue relacionado con la ingesta de productos infectados con encefalitis espongiforme bovina, que se había presentado recientemente y se le denominó: nueva variante de la CJD.

**Insomnio familiar fatal:** Esta enfermedad, poco frecuente, parece estar vinculada con un factor genético. Además de insomnio pertinaz, se acompaña de síntomas encefálicos de tipo degenerativo. Evoluciona muy rápido, hacia la muerte.

## VÍAS DE ADQUISICIÓN

Las enfermedades por priones son transmisibles, pero no se contagian de persona a persona.

Se adquieren principalmente por ingestión de tejidos contaminados, ya sea carne de un animal enfermo, como en el caso de la Enfermedad de las Vacas Locas, o de un humano, como en el Kuru, ocasionado por costumbres de canibalismo en rituales religiosos, por grupos tribales de Papua y Nueva Guinea.

También se pueden adquirir por recibir productos extraños de otros seres humanos o animales que tengan la enfermedad, como el caso de los machacados de hipófisis de cadáveres, que se utilizaron para producir Hormona del Crecimiento y administrarla a niños. Esta práctica muy frecuente entre 1958 y 1985, demostró que en 27,000 pacientes tratados con este método, 226 desarrollaron encefalitis degenerativa y murieron después de varios años. La misma observación se detectó en trasplantes de duramadre o corteza cerebral (228) y en trasplantes de córnea (2).

Igualmente, se observa en casos de neurocirugías (4) o al practicar electroencefalografías (2). Las transfusiones sanguíneas intrahospitalarias, también fueron incluidas. Estas últimas, se atribuyeron al empleo de instrumental contaminado después de utilizarlo en pacientes infectados con priones.

Todas las vías de adquisición, que no fueran por ingestión, se consideran como iatrogénicas, o sea consecuencia de negligencia médica.

Los investigadores piensan que sus hallazgos ameritan que se investigue la posibilidad que otras encefalitis degenerativas del cerebro, como la Enfermedad de Alzheimer, o de Huntington, así como el Parkinson, sean consecuencia de una infección por un prion adquirido iatrogénicamente por los mecanismos mencionados, o como consecuencia de trasplantes de órganos.

Se basan en el hecho que éstas tienen igualmente, un período prolongado de incubación, hasta de 20 años. Su evolución también es lenta y progresiva y siempre lleva a la muerte. Además, la resistencia de los priones a los métodos de esterilización, harían muy difícil asegurar su desaparición total en los instrumentos clínicos y quirúrgicos, que podrían infectar a otros pacientes, al utilizarlos nuevamente.

A esto se suma el hecho, que al efectuar la autopsia de 8 pacientes jóvenes que habían fallecido en Inglaterra a causa de la nueva variante de CJD, se encontró en las células cerebrales, un almacenamiento exagerado de proteína beta-amiloide que previamente, sólo se habían observado en estudios histológicos de la Enfermedad de Alzheimer. Se sostiene que este hallazgo es inexplicable en los 8 pacientes analizados, porque eran demasiado jóvenes para haber podido acumular esa cantidad tan elevada de proteínas.

Si se demuestra que otras encefalitis degenerativas como las mencionadas, también podrían ser producidas por priones, se habrá hecho un gran avance en el diagnóstico etiológico de estas enfermedades tan temibles.

Los nuevos estudios están ahora dirigidos a encontrar mecanismos que puedan impedir la modificación de los "priones buenos" en "malos", evitando así el plegamiento anormal, que llevaría a la destrucción



progresiva de las neuronas. Si esto se logra, se habrá obtenido el tratamiento específico para bloquear el desarrollo de los priones y de las enfermedades que producen.

Si bien la naturaleza nos sorprende con su permanente evolución y sus notables modificaciones, también constatamos que la ciencia avanza vertiginosamente, tanto desde el punto de vista tecnológico como de razonamiento, resolviendo los nuevos retos que se presentan y tratando de preservar la salud, que es la meta de las ciencias médicas.

---

NOTA.- La Prof. Dra. Sonia Burstein Alva un año antes de su sensible e inesperado fallecimiento el 16 de Octubre del 2018 escribió un libro con sus "Memorias y Experiencias en Microbiología" que quedó inédito y del cual se publicó algunos artículos en el número anterior de este boletín. Reproducimos en este número "TÉCNICAS Y COMENTARIOS EN EL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS HECES" conteniendo una valiosa contribución conceptual y tecnológica a los procedimientos de laboratorio microbiológico que serán de gran utilidad para estudiantes y médicos de la especialidad así como para los médicos en general y laboratoristas clínicos.