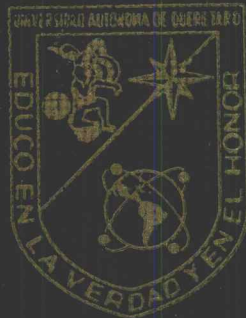


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE QUIMICA



RECOPIACION BIBLIOGRAFICA DEL GENERO

SHIGELLA

TESINA
TEORICA

QUE PARA OBTENER EL TITULO

Químico Biólogo

PRESENTA

P. Q. B. Alfredo Cancino Escobar

*Si aparece
en listado
TESINA*

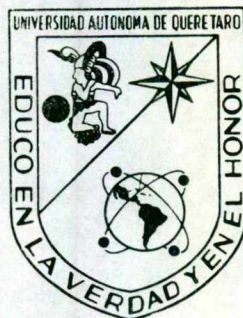
J50703



J50703

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE QUIMICA



RECOPILACION BIBLIOGRAFICA DEL GENERO

SHIGELLA

TESINA
TEORICA

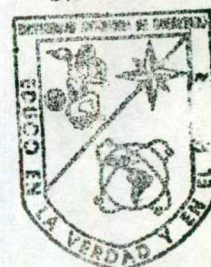
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

Químico Biólogo

PRESENTA

P. Q. B. Alfredo Cancino Escobar

FACULTAD DE
QUIMICA



BIBLOTECA

No. Adg. 150703

No. Título _____

Glas. TS 616.9355

C215r

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

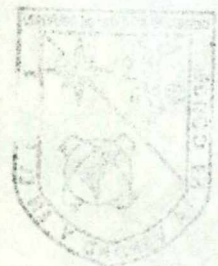
FACULTAD DE QUÍMICA



RECOPIACION BIBLIOGRAFICA DEL GENERO

S H I G E L L A

FACULTAD DE QUÍMICA



BIBLIOTECA

T E S I S A T E O R I C A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

Química Biólogo

P R E S E N T A

P. G. B. Alberto Cancino Escobar

S H I G E L L A

INDICE POR TEMAS.

TAXONOMIA	1
GENERALIDADES	4
HISTORIA	10
PROPIEDADES FISICAS QUIMICAS Y BIOLOGICAS DE SHIGELLA	13
PROPIEDADES DE CULTIVO	15
PROPIEDADES MACROSCOPICAS	19
PROPIEDADES MICROSCOPICAS	20
DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD	21
PATOGENIA	35
DIAGNOSTICO DE LABORATORIO	38
PROBABLES PRUEBAS INMUNOLOGICAS	44
PROFILAXIS	50
PROBABLE TRATAMIENTO	52
BIBLIGRAFIA	59

PRESENTA:

P.Q.B. ALFREDO CANCINO ESCOBAR.

TAXONOMIA

En la primera mitad del siglo XIX, Ehrenberg introdujo por primera vez el término Bacterium, diminutivo griego de la palabra bastón, para designar a las formas alargadas de organismos microscópicos. Como estas formas de bastoncillos eran las que predominaban, se dio el nombre de bacteriología a la ciencia que se ocupa del estudio de todas ellas, independientemente de su forma. Entonces estaban incluidas entre los protozoarios, hasta que Cohn, en 1854, las clasificó entre los vegetales y, poco tiempo después, Nageli las relacionó con los hongos e introdujo el término Schizomycetes.

En la actualidad hay un nuevo concepto sobre los reinos. Los seres vivos se dividen en cinco: Monera, Protista, Hongos, Vegetal y Animal.

Las bacterias están incluidas en el reino Monera y son organismos procariotes que, a diferencia de los eucariotes carecen de organelos endoplásmicos delimitados por membranas, si bien contienen el material que desempeña la función de éstos.

De acuerdo con la octava edición del Manual de Bacteriología Determinativa de Bergey, las bacterias ocupan la posición siguiente:

REINO MONERAS
(Procariotes)

DIVISION I. Bacterias fototróficas

Clase I Fotobacterias azul-verdes

Clase II Fotobacterias rojas

Clase III Fotobacterias verdes

DIVISION II. Escotobacterias

Clase I Las bacterias.

Clase II Escotobacterias parásitas obligadas en células eucariotas.

Clase III Escotobacterias sin pared celular.

FAMILIA: Enterobacteriaceae.

TRIBU: Escherichae.

GENERO: Shigella.

ESPECIES: S. dysenteriae.

S. flexneri.

S. boydii.

S. sonnei.

Resumiendo tenemos que:

REINO: Monera.
DIVISION: Escotobacterias.
CLASE: Bacterias.
FAMILIA: Enterobacteriaceae.
TRIBU: Escherichae.
GENERO: Shigella.
ESPECIES: S. dysenteriae.
S. flexneri.
S. boydii.
S. sonnei.

(5, 13, 14, 15)

GENERALIDADES.

Los avances en el conocimiento de la etiopatología de las enfermedades diarreicas y el desarrollo de las nuevas técnicas para el estudio de las mismas, han cambiado en los últimos años así como los conceptos relacionados con frecuencia y distribución de los agentes infecciosos que causan dicho síndrome. Destaca en primer lugar el hecho de que las nuevas técnicas para identificar agentes virales, así como bacterias toxigénicas e invasoras, aundan a las tradicionales, coprocultivo o coproparasitoscópico fundamentalmente, nos permiten identificar agentes patógenos aproximadamente en las dos terceras partes del total de casos estudiados.

Los organismos invasores, fundamentalmente diversas especies de *Shigella* y *Salmonella*, probablemente sean las bacterias -- más frecuentes identificadas; sin embargo es necesario ampliar las investigaciones en este sentido pues hay trabajos que muestran pre dominio de bacterias productoras de enterotoxinas, fundamentalmente *E. coli*.

En el cuadro siguiente se resumen los resultados de varios estudios recientes en EE.UU., México y Brasil, efectuados en niños con diarrea aguda.

Para la población adulta de los países desarrollados la diarrea en general presenta cuando mucho una molestia. Sin embargo, entre los niños pequeños, los ancianos y los desnutridos, en condiciones de vida marginal, la diarrea representa una entidad - - -

DIARREA INFECCIOSA: FRECUENCIA RELATIVA (%) DE AISLAMIENTO DE AGENTES PATOGENOS
 EN NIÑOS CON DIARREA AGUDA DE TRES AREAS GEOGRAFICAS.

	EE. UU.	BRASIL	Cd. DE MEXICO
ROTAVIRUS	8-50	5-45	12-20
VIRUS NORWALK	10-27	1-2	5
ADENOVIRUS	2	5-10	4
ETEC	1-7	7-50	10-22
EPEC	A	4-6	5-10
C. JEJUNI	1-7	2-14	12-15
SHIGELLA	1-25	5-16	8-12
SALMONELLA	2-4	0-15	2-6
Y. ENTEROCOLITICA	1-3	1-3	1-3
G. LAMBLIA	3.7	1-7	2-6
E. HISTOLYTICA	0.6	2-15	1
CRYPTOSPORIDIUM	2.8	4-8	2

invalidante, incluso con amenaza de la vida. Hasta un tercio de -- los decesos pediátricos en países en desarrollo se atribuyen a diarrea y la deshidratación resultante. La diarrea también ha modificado la historia militar al incapacitar a gran número de hombres, inhabilitándolos para la batalla.

La gastroenteritis infecciosa constituye uno de los principales problemas de salud en casi todos los países de América latina, especialmente en los niños menores de 5 años.

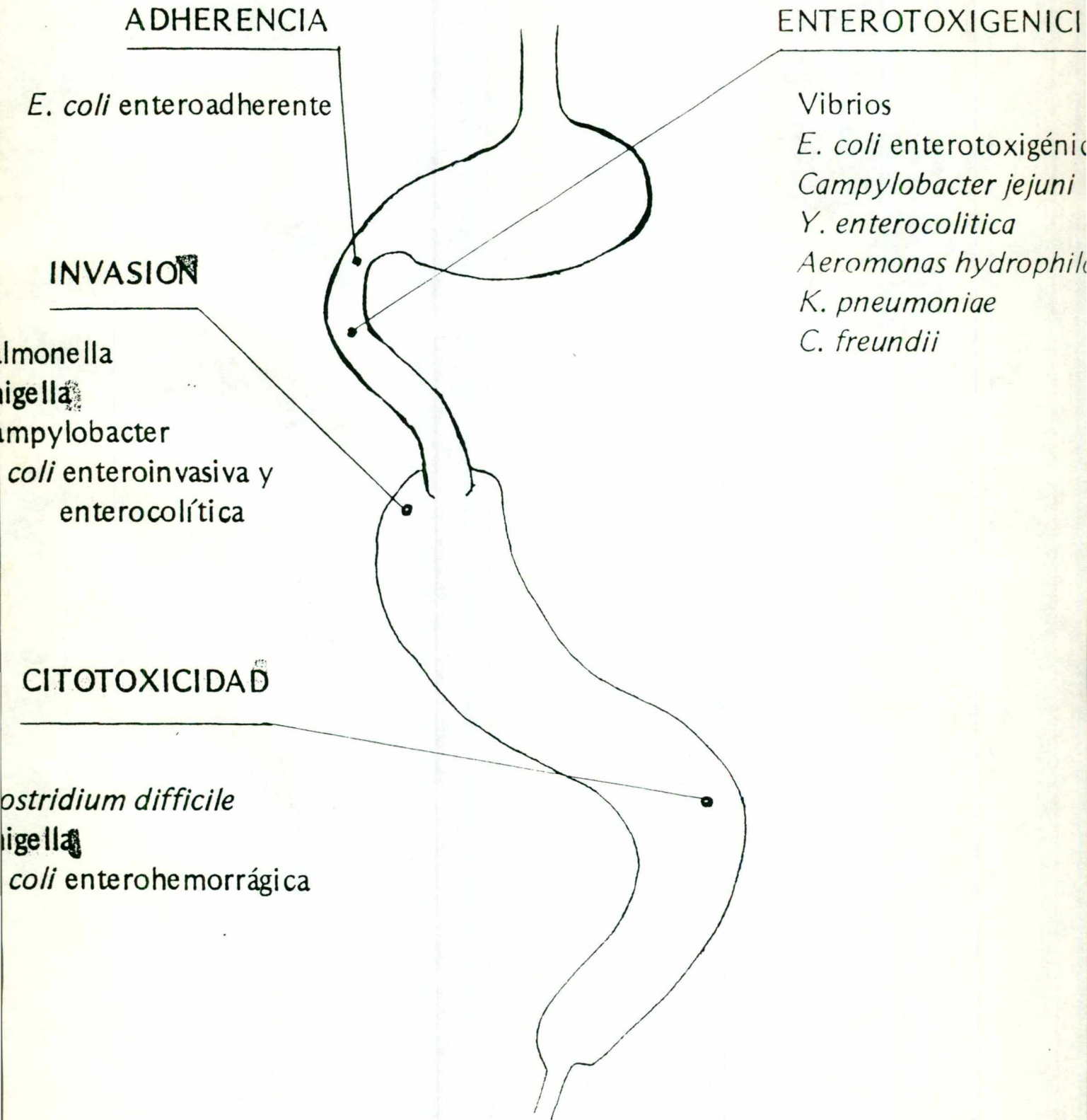
Según informes de la Organización Mundial de la Salud las enfermedades diarreicas figuraron entre las tres principales causas de defunción en los niños menores de 5 años, en 15 de 18 países de la región que notificaron datos en 1970 y 1979.

Los mecanismos de transmisión son a través del agua, los alimentos y bebidas contaminadas con restos de materia fecal (ciclo largo) o por contacto directo a través de las manos (ciclo corto). El periodo de incubación varía generalmente en 1 y 4 días, y el de contagiosidad, durará todo el tiempo que el germen se elimine por heces, lo cual acontece desde unos cuantos días, hasta varias semanas.

En las diarreas infecciosas causadas por bacterias se han identificado cuatro mecanismos patogénicos diferentes, que corresponden cada uno de ellos a una lesión anatomopatológica distinta: invasión, enterotoxigenicidad, adherencia y citotoxicidad. (ver figura siguiente).

Figura 2.

MECANISMOS PATOGENICOS EN DIARREA INFECCIOSA



Las bacterias capaces de invadir la mucosa intestinal son las diversas especies del género *Shigella* y algunas cepas de *Escherichia coli* no productoras de enterotoxinas. *Shigella dysenteriae* produce también una enterotoxina para las células del endotelio capilar del intestino.

La producción de citotoxinas se ha descrito en *C. difficile*, *Shigella* y *E. coli* enterohemorrágica. Estas toxinas producidas por *E. coli* enterohemorrágica generalmente se sutolimitan; sin embargo hay ocasiones en las cuales la *coli* enterohemorrágica secreta citotoxinas denominadas Shigalike 1 y 2 que se han asociado con el síndrome urémico hemolítico.

Los datos clínicos observados en la gastroenteritis pueden convencionalmente agruparse en cuatro síndromes o grupos: síndrome diarreico, síndrome disentérico, síndrome infeccioso y complicaciones. El síndrome diarreico se manifiesta como un aumento brusco en el número de evacuaciones y en el contenido líquido de las mismas; puede haber sangre y moco en ellas y están compuestas fundamentalmente de materia fecal líquida; también puede haber cólico. El síndrome disentérico se caracteriza por la presencia de evacuaciones numerosas, compuestas fundamentalmente de moco y sangre, con escasa materia fecal; casi siempre se acompaña de cólicos, pujo y tenesmo. El síndrome infeccioso se caracteriza por fiebre, anorexia, vómitos y ataque al estado general.

Los síndromes pueden presentarse en forma simultánea o sucesiva en un mismo paciente o bien el cuadro clínico puede correspon

der a uno solo; sin embargo para hacer el diagnóstico es necesario cuando menos, la presencia de diarrea o disentería. La frecuencia o intensidad de los síntomas y en tipo de síndrome varía de acuerdo con el agente patógeno, lo que permite al clínico cierta orientación etiológica; sin embargo, el margen de error es muy elevado y por lo tanto, los exámenes de laboratorio son indispensables cuando se desea establecer el diagnóstico etiológico. En el cuadro siguiente se presenta la relación cualitativa y semicuantitativa entre las diferentes manifestaciones clínicas y los principales agentes etiológicos.

Complicaciones: Un aspecto muy importante del diagnóstico de la gastroenteritis, lo constituye la investigación y el descubrimiento oportuno de las complicaciones:

a) Desequilibrio hidroelectrolítico. Es la más frecuente de todas y constituye la principal causa de muerte cuando no es diagnosticada y tratada oportunamente. Es importante determinar las alteraciones del volumen circulante, de la osmolaridad, del equilibrio ácido-base y las diferencias específicas de iones. Las gastroenteritis graves generalmente cursan con hipovolemia, acidosis metabólica e hipopotasemia como patrón de desequilibrio electrolítico más frecuente.

La cuantificación de pH, CO_2 , K, Na y Cl sericos y el electrocardiograma, aportan datos valiosos en el diagnóstico y manejo de esta complicación.

b) Septicemia. Debe sospecharse en presencia de fiebre elevada o

GASTROENTERITIS

PRINCIPALES CARACTERISTICAS CLINICAS SEGUN AGENTE ETIOLOGICO

Agente Etiológico	Síndrome infeccioso		Síndrome diarreico		Síndrome disentérico	Duración en días	Intolerancia a lactosa
	Fiebre	Vómito	Con sangre	Sin sangre			
Virus:							
Rotavirus	+	++		++		5-7	++
Agente Norwalk	+	+		+		1-2	
Bacterias toxigénicas:							
V. cholerae		+		+++		2-7	
E. coli		++		++		5-10	
Cl. difficile	++	++	+	++		Variable*	
S. aureus		+++		+		1-3	
Bacterias invasoras:							
E. coli	++	+	+		++	5-10	
Shigella	++	+	++		++	2-14	+
Salmonella	+	+	++	+		3-10	+
C. jejuni	++	+	++		+	1-2	
Y. enterocolitica	+	+	+	++		3-14	
Otras bacterias:							
E. coli enteropatógeno	+	+	+	+		5-10	
V. parahemoliticus	+	+		++	+	2-5	
Parásitos:							
E. histolytica	+	+	+		++	5-14	
G. lamblia		++		++		15	+

* Los síntomas generalmente desaparecen al suspender el antibiótico.

hipotermia, asociada con ataque al estado general, sobre todo en ausencia de deshidratación, y fundamentalmente cuando existen varios focos infecciosos. En estas circunstancias debe practicarse hemocultivo.

c) El estado de choque puede complicar al desequilibrio hidroelectrolítico y a la septicemia. Se manifiesta con hipotensión arterial, llenado capilar lento, taquicardia, cianosis y confusión mental como síntomas principales. Una ayuda práctica del laboratorio la constituye la determinación del hematocrito en sangre periférica y central; suele encontrarse normal en esta y aumentado en la primera.

d) Insuficiencia renal. Esta puede ser funcional u orgánica por necrosis tubular y se presenta en niños con desequilibrio electrolítico severo, estado de choque y/o septicemia.

La vigilancia del volúmen urinario, así como el exámen de orina, ayudan a establecer el diagnóstico.

e) Ileon paralítico. La presencia de meteorismo con suboclusión deben hacer sospechar esta complicación y en tales circunstancias la radiografía simple de abdomen establece el diagnóstico cuando revela dilatación de asas y presencia de niveles hidroaéreos.

f) Intolerancia a azúcares. Se deben sospechar en casos de diarrea grave, diarrea prolongada, eritema glúteo severo y aumento de las evacuaciones y los vómitos, así como distensión abdominal, inmediatamente después de la ingestión de leche, pues la intolerancia más frecuente es la lactosa.

La determinación del pH en las heces, el cual es ácido en casos de intolerancia, así como la presencia de azúcar en ellas, establece el diagnóstico.

g) Neumatosis intestinal. Se puede presentar en casos de ileon paralítico e intolerancia a azúcares. La radiografía simple de abdomen revela -- bandas radiolúcidas en las paredes intestinales y puede asociarse con neumatosis hepática.

h) Complicaciones quirúrgicas. El infarto y la perforación intestinal pueden presentarse cuando las lesiones son muy extensas y hay compromiso vascular. El cuadro clínico es de oclusión intestinal y de peritonitis, con evacuaciones sanquinolentas, melena y en ocasiones timpanismo en área hepática o palpitación de "plastrón" en el sitio del infarto. La radiografía simple de abdomen muestra en estos casos la presencia de una asa intestinal dilatada y edematosa denominada "asa centinela". Cuando hay perforación puede existir aire libre subdiafragmático y si la peritonitis es importante borramiento de las líneas peritoneales y líquido libre en la cavidad abdominal.

(8, 12, 14, 19)

HISTORIA

En Japón, en 1898, Shiga descubrió el primer miembro de este grupo de bacilos y, en su honor, el género ha recibido la designación de *Shigella*.

Aunque la Toxina de la *Shigella dysenteriae* serotipo 1 fue descubierta hace 80 años y fue largamente reconocida como una de las más potentes toxinas bacterianas, el remoto esfuerzo para caracterizar su estructura, actividad biológica, genética y papel de la patogenia, fue estorbado por dificultades en la preparación de la toxina pura, para obtener reagentes inmunológicos apropiados y así conducir a estudios genéticos con *S. dysenteriae* 1. La enterotoxigenidad de la toxina Shiga fue primeramente reportada en 1972.

Shigellosis, la severa forma de que fue llamada históricamente la disenteria bacilar, es una enfermedad limitada a humanos y ciertos primates. La bacteria que causa Shigellasis pertenece al género *Shigella* y son clasificadas dentro de cuatro especies y 40 serotipos sobre las bases de las características de sus antígenos "O". Las especies de Shigella son: *S. dysenteriae* (serogrupo A), *S. flexneri* (serogrupo b), *S. boydii* (serogrupo C) y *S. sonnei* (serogrupo D).

Algunos detalles sobre toxina Shiga fueron revisados sobre los pasados 50 años. La toxina Shiga fue primeramente descrita en 1903 por Conradi, quien reporta que la inoculación intravenosa de autolizados de bacilos de Shiga (*Shigella dysenteriae* 1) paralizan y matan conejos. Fue subsecuentemente demostrado que varias especies de animales exhiben

diferentes susceptibilidades a los efectos letales de la toxina Shiga, pero solamente el conejo y ratón presentan síntomas neurológicos. Estudios realizados por el año 1950 sugieren que la toxina Shiga no actúa directamente en neuronas (actualmente ya no es considerada una neurotoxina) pero ésta puede causar daños neurológicos secundarios por la acción en el sistema vascular de el cerebro y espina dorsal.

Más recientemente datos pertenecientes a la interacción de la toxina Shiga con neuronas son controversiales. Wiley reporta que la toxina Shiga purificada puede ser axonalmente transportada en neuronas sensoriales de rata y pueden matar estas neuronas. En contraste Brown olvidó en la demostración el transporte axonal de toxina Shiga purificada, tampoco fueron capaces de demostrar citotoxicidad o especificidad obligatoria a neuroblastoma de células híbridas. La razón para los diversos resultados de Wiley y Brown no es aparente.

Aunque los efectos paralíticos letales de la ruda toxina Shiga fueron originalmente demostrados en la parte temprana de este siglo no fue hasta los 1940 que fue reportada ser citotóxica para células seleccionadas de mamíferos.

Subsecuentemente, Keusch y colaboradores mostró una parcialmente purificada preparación de toxina Shiga enterotóxica al poder sacar fluido acumulado en segmentos líquidos de ileon de conejo.

Cuando purifican la toxina Shiga haciendose disponible en los - - 1980s, algunos grupos independientemente demostrando la citotoxicidad paralítica letal y actividades enterotóxicas descritas al estudiar

extractos y filtrados de cultivos de bacilos de Shiga que pueden ser atribuidas a una toxina simple.

Esta variedad de propiedades biológicas parece reflejar la acción molecular de la toxina Shiga, inhibición de síntesis proteica de células blanco susceptibles.

Otros importantes avances que fueron hechos durante la pasada década incluyen lo siguiente:

Purificación de la toxina Shiga para homogenizarla.

Identificación de receptores celulares de superficie para toxinas.

Se demostró que la acción intracelular de toxinas causa una inhibición de la síntesis proteica.

Se reconoce que la *Escherichia coli* y otras bacterias entericas producen toxinas similares a la Shiga.

Apreciación de que las citotoxinas vero y toxinas semejantes a la Shiga son las mismas.

Purificación de toxinas semejantes a la Shiga para homogenización.

Demostración de que la producción de toxinas semejantes a la Shiga puede ser controlada por conversión de fagos.

Clonación y caracterización de los genes estructurales para toxinas semejantes a la Shiga.

Asociación de toxinas semejantes a la Shiga de *C. coli* con producción de colitis hemorrágica, y Síndrome Urémico Hemolítico (SHU).

(9, 14, 22, 23)

PROPIEDADES FISICAS QUIMICAS Y BIOLOGICAS.

Son destruidos con relativa facilidad por el calor.

Mueren a temperatura de pasteurización, se les mata en cultivo en caldo a 55°C en una hora, y a 60°C en 20 minutos.

Por lo anterior, puede lograrse el control de estos bacilos entericos en los alimentos por medio de pasteurización, cocción completa y refrigeración apropiada. Para otro tipo de materiales se puede emplear el uso de autoclaves.

No producen esporas por lo que son destruidos con relativa facilidad por bajas concentraciones de germicidas y desinfectantes comunes. El fenol, formaldehído, beta-glutaraldehído y compuestos alogenados son bactericidas para estos microorganismos. Los compuestos de amonio cuaternario pueden ser solo bacteriostáticos, dependiendo de la fórmula y situación en particular. El uso de cloro en agua ha sido útil para controlar la diseminación de estos microorganismos.

Toleran las sales biliares y tinturas bacteriostáticas en grado variable, un hecho que es útil en el desarrollo de medios de aislamiento primario.

Muchos desinfectantes comunes son letales para el género *Shigella*. Las altas concentraciones de ácidos son perjudiciales, requiriéndose el uso de medios bien amortiguados para el transporte de muestras y para el cultivo de microorganismos. Las concentraciones altas de bilis son inhibitorias para ciertas cepas, haciendo que ciertos medios entericos no

sean adecuados para el aislamiento de Shigellas de muestras clínicas.

Estos microorganismos también son relativamente sensibles a la desecación, pero pueden sobrevivir durante largos periodos cuando se les proporciona la humedad adecuada. En medios hospitalarios, los equipos de asistencia respiratoria y de anestecia han servido como fuente de infecciones. Estos bacilos pueden tolerar el frío durante largos periodos. Han sido aislados de nieve y hielo luego de varios meses, proporcionando un mecanismo para la contaminación de agua durante el deshielo primaveral. También las máquinas de hielo contaminadas son una fuente de infección. Pueden sobrevivir más de seis meses en el agua a temperatura ambiente.

(7, 9, 10, 13, 16)

PROPIEDADES DE CULTIVO

El género *Shigella* son anaerobios facultativos. Se desarrollan fácilmente en medios ordinarios de cultivo sobre agar sangre sus colonias se asemejan a las de *E. coli*. Los límites de temperatura para su crecimiento van de 10°C a 40° excepto para *S. sonnei*, que crece hasta 45°C. Los límites de pH son de 6 a 8. Son parcialmente inhibidos por sulfito de bismuto y por verde brillante, y se ven favorecidos en parte por -- otras sustancias que a continuación analizaremos para cada uno de los me di os de cultivo más empleados para su aislamiento.

AGAR EMB (eosina azul de metileno):

Es un medio diferencial utilizable en lugar del agar de MacConkey para aislar y detectar enterobacterias o bacilos coliformes relacionados en muestras de bacterias mixtas.

Los colorantes de anilina (eosina azul de metileno) inhiben a las bacterias gram positivas y a las gram negativas exigentes. También se combinan precipitando a pH ácido, actuando como indicadores de producción de ácidos.

La presencia de lactosa ayuda a identificar a los fermentadores de este hidrato de carbono, que en caso de la *Shigella* la cual no lo uti liza da colonias transparentes. En la fórmula modificada también se pueden detectar fermentadores de sacarosa.

La peptona actúa como elementos nutritivos básicos que promueven el desarrollo de la *Shigella* (que es la bacteria que nos ocupa), específicamente, suministrando las fuentes de carbono y nitrógeno necesarias

para el metabolismo bacteriano.

AGAR DE MAC CONKEY:

También es un medio diferencial para la selección y recuperación de enterobacterias y bacilos gram positivos entericos.

Las sales biliares y el cristal violeta inhiben el desarrollo de bacterias gram positivas y algunas gram negativas exigentes, y dado que la Shigella no es inhibida, esta se puede recuperar de este medio.

Dado que la Shigella no utiliza la lactosa las colonias de ésta son incoloras o transparentes.

La Shigella utiliza a la peptona y polipeptona como fuentes de -- carbono y nitrógeno necesarios para su metabolismo.

AGAR SALMONELLA-SHIGELLA:

Es un medio altamente selectivo, que inhibe el desarrollo de la mayoría de los coliformes y permite el de especies de Salmonella y Shigella de muestras ambientales y clínicas.

La alta concentración de sales biliares y citratos de sodio inhiben a todas las bacterias gram positivas y a muchas grma negativas, incluyendo las coliformes. El aumento en la concentración de sales biliares provoca un desarrollo pobre o nulo de las cepas más exigentes de Shigella.

La Shigella no utiliza la lactosa como único hidrato de carbono, ni el tiosulfato de sodio como unica fuente de azufre por lo que la

Shigella muestra inhibición variable y sus colonias incoloras no presentan ennegrecimiento.

La alta selectividad permite el uso de un inoculo abundante.

AGAR XILOSA LISINA (XLD):

Es menos inhibidor del desarrollo de coliformes que el HE y fue ideado para detectar Shigella en Heces tras enriquecimiento en caldo GN.

Las sales biliares en concentración relativamente baja hace a este medio menos selectivo que otros.

La Shigella no utiliza ninguno de los hidratos de carbono contenidos en el medio (xilosa, lisina, lactosa, sacarosa). No utiliza el tiosulfato de sodio como fuente de azufre.

La Shigella utiliza el extracto de levadura como elemento nutritivo, el cual se utiliza para promover el desarrollo de los organismos más exigentes. La Shigella al solo utilizar el extracto de levadura forma colonias translúcidas.

AGAR ENTERICO HEKTOEN (HE):

Es ideal como medio de cultivo directo de muestras fecales para aumentar el rendimiento en la recuperación de especies de Salmonella y Shigella, frente a la abundancia de organismos de la flora normal.

La Shigella no utiliza ninguno de los hidratos de carbono del medio (lactosa, sacarosa, salicina), así como tampoco el tiosulfato como fuente de azufre por lo que sus colonias son translúcidas o verde claro (debido al color de fondo del medio), y no presentan ennegrecimiento.

Utiliza la peptona como fuente de carbono y nitrógeno aunado al extracto de levadura que actua como un enriquecimiento nutritivo del medio para favorecer el desarrollo.

AGAR DESOXICOLATO-CITRATO (ADC):

Es más utilizado para seleccionar especies de Salmonella. La Shigella no utiliza la lactosa del medio y como no es inhibida por la concentración de sales biliares presente ésta puede desarrollar utilizando las peptonas como fuente de carbono y nitrógeno, así como la infusión de carne.

En resumen podemos decir que la Shigella solo utiliza la peptona o los extractos como fuentes de carbono y nitrógeno, por lo que las colonias formadas con incoloras o de color casi semejante al del medio.

En resumen podemos decir también que no utiliza las otras fuentes de carbono y azufre que se encuentran presentes en cada uno de los medios de cultivo utilizados por lo que la presencia de éstos no nos aporta ninguna información para la identificación presuntiva y que además su desarrollo solo se ve inhibido por el sulfito de bismuto, el verde brillante y por altas concentraciones de sales biliares.

(11, 14, 18, 20, 21)

PROPIEDADES MACROSCOPICAS.

AGAR EMB (eosina azul de metileno):

Colonias pequeñas, redondas, transparentes, incoloras.

AGAR MAC CONKEY:

Colonias de aproximadamente 2 milímetros de diámetro; son convexas, circulares e incoloras o transparentes.

Las colonias de *S. sonnei* tienden a ser pegajosas.

AGAR SS (Salmonella-Shigella):

Colonias incoloras transparentes, muestran inhibición variable y no presentan ennegrecimiento, de 2 a 7 mm de diámetro. Las colonias de *S. sonnei* se pueden dar grandes, aplanadas e irregulares.

AGAR XLD (Xilosa-lisina-desoxicolato):

Colonias transparentes o translúcidas rojas, rodeadas de una zona roja transparente en el agar.

AGAR HE (enterico Hektoen):

Las colonias son más verdes que las de *Salmonella* y el color se debilita hacia la periferia. La periferia de las colonias con frecuencia mayor que la porción central.

AGAR ADC (desoxicolato-citrato):

Se forman colonias grandes e incoloras.

(11, 14, 18, 20)

PROPIEDADES MICROSCOPICAS.

Los miembros del género *Shigella* son bastoncitos cortos, no capsulados, no esporulados, inmóviles que miden de 0.5 a 0.7 micras de ancho y de 2.0 a 3.0 micras de longitud.

Se tiñen uniformemente como gram negativos. En cultivos jóvenes pueden presentarse formas cocobacilares.

(10, 15)

DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD.

La disentería bacilar se produce luego de que las Shigellas se adhieren y penetran en las células epiteliales de la superficie del ileon terminal y colon. Primero hay inflamación local seguida por muerte celular y desprendimiento de estratos epiteliales, dando como resultado úlceras poco profundas. Las Shigellas virulentas poseen tres factores que contribuyen en estos sucesos: 1) una estructura de lipopolisacarido (LPS) liso: 2) invasividad, y 3) producción de toxinas.

LIPOPOLISACARIDO LISO. La importancia del LPS liso en la virulencia de las Shigellas se ha demostrado con *S. sonnei* y *S. flexneri*. Sansonetti y colaboradores han demostrado que la *S. sonnei* virulenta posee un plásmido grande de 120 megadaltons que codifica la producción de cadenas laterales o específicas de ácido 2-amino-2-desoxi-L-altrurónico, dando como resultado la formación de colonias lisas o en fase I. La pérdida de este plásmido da como resultado la pérdida de estas cadenas laterales y se evidencia por la producción de colonias rugosas o en fase II. Las variantes en fase II son avirulentas, mientras que las colonias en fase I son virulentas. Se han producido híbridos de *S. flexneri* y *E. coli* que son virulentos solo cuando se expresan los antígenos O de *S. flexneri*. Aunque no se ha demostrado, las cadenas laterales pueden proporcionar una forma de adherencia a receptores celulares específicos del huésped.

INVASIVIDAD. Las Shigellas virulentas penetran en las células epiteliales del colon en forma irregular. Los microorganismos rara vez penetran en la lámina propia y existen intracelularmente en vacuolas citoplasmáticas. La invasión de las células del huésped depende tanto del estado metabólico de éstas, como de las células bacterianas. Cationes bivalentes como calcio, magnesio y hierro ayudan en este proceso. Luego de adherirse a las células epiteliales, los microorganismos adherentes producen una sustancia de bajo peso molecular que induce un movimiento de plegamento de la membrana de las células del huésped e inicia la pinocitosis en células normalmente no fagocíticas. Una vez dentro de la Célula, las Shigellas inducen cierto número de cambios degenerativos en la ultraestructura, indicando lesión celular. La lesión celular puede relacionarse con la producción de toxina. La invasividad de las células epiteliales está medida por un gen ligado al cromosoma que se ubica cerca de las regiones purina E y lactosa-galactosa de éste.

TOXINA. Los siguientes dos puntos pertenecientes a toda purificación proyectada se enfatizan:

- (i) La toxina Shiga es una toxina de asociación celular, ésta puede localizarse en el espacio periplasmático y liberarse en el medio de cultivo después de morir la célula; y
- (ii) El producto de toxina Shiga es incrementado si la bacteria es cultivada en un medio conteniendo metal reductor o un medio que tenga el pH ajustado a 8.

La purificación de la toxina Shiga para homogenizarla

fue primeramente reportada en 1980, y algunos nuevos y modificados procesos de purificación fueron subsecuentemente publicados. El protocolo para la nueva purificación de toxinas usado en nuestro laboratorio es representativo de los varios modelos. La Shigellae son crecimientos en un medio reducido, modificando un caldo glucosado sin caseína. Los organismos son separados por centrifugación y lisados presionando la célula, y los lisados son clasificados por ultracentrifugación y pasados por un AFFI-GEL azul. La toxina atada a la AFFI-GEL azul es eluida de la columna y subsecuentemente purificada por cromatografía de afinidad antitoxinica y cromatografía de enfoque. Cerca de 60% de la citotoxina activa presente en el inicio de células lisadas es recuperado, pero la cantidad de proteína purificada es baja (100 a 200 microgramos de toxina por ocho litros de cultivo). El producto de toxina purificada por tres litros de cultivo fue reportado por Olsnes y colaboradores y fueron 150 ng con una recuperación de 5%. Por contraste Donohue-Rolfe y colaboradores reportaron productos de la altura de 800 microgramos de toxina proteínica purificada de cuatro litros de cultivo (recuperación, 47%). En suma de los diferentes productos de toxina Shiga purificada obtenida por varios investigadores, un rango de valores fue reportado por la actividad específica de toxina Shiga purificada medido como 50% de la dosis citotóxica (CD 50) por miligramo de toxina o 50% de la dosis inhibitoria de síntesis proteica (ID 50) por miligramo de toxina. La actividad específica de toxina Shiga purificada publicada es 4×10^7 CD 50/mg, 3×10^8 CD 50/mg, 5×10^8 a 1×10^9 CD 50/mg Y 1×10^9 ID 50/mg.

Estas diferencias en actividad específica pueden reflejar diferencias sensiblemente de las células HeLa usadas para detectar citoxina, variaciones entre laboratorios en el método usado para medir citotoxicidad o diferencias en la pureza o amplitud de desnaturalización de la preparación de varias toxinas. Las estimaciones pasadas de el peso molecular de la holotoxina Shiga purificada tiene un rango de 58 000 a 70 000. El valor de 70 000 parecer ser correcto calculado de datos recientes en subunidades MW y subunidades estequiométricas. La toxina Shiga comprende una subunidad A de peso molecular 32 000 y cinco copias de una subunidad B de peso molecular 7 700. La subunidad B consiste de 69 aminoácidos los cuales concuerdan exactamente en composición y frecuencia con los 69 aminoácidos inferidos de la secuencia nucleótida de el gen para la subunidad B de la toxina similar a la Shiga tipo 1 de C. coli. La subunidad A debe ser cortada en partes por una enzima proteolítica y sus uniones disulfuro deben ser reducidas por el de el enzimáticamente activo fragmento A1 de peso molecular 27 000. La subunidad estructural de la toxina Shiga purificada es reminiscencia de aquellas de toxina de colera y toxinas termolábiles de C. coli, pero no una reactividad antigénica cruzada es demostrable entre la toxina Shiga y estas toxinas. Seidah y colaboradores hacen propuestas sobre las bases de datos de secuencias de aminoácidos que la subunidad de toxina termolábil de C. coli y toxina de colera son distintamente relacionadas con la subunidad B de toxina Shiga.

Aunque algunas cepas de *S. flexneri* y *S. sonnei* producen -- muy bajos niveles de Toxina Shiga-like que es neutralizable por antitoxina Shiga, esta toxina no fue sin embargo obtenida en forma pura. O'brien y la Veck usaron un radioinmuno ensayo en fase s \acute{o} lida para medir el aumento de toxina antig \acute{e} nica producida por *Shigella* spp., otras diferentes de la *S. dysenteriae* 1. Estos resultados indicaron que las variaciones en niveles de citotoxina producida por las diferentes *Shigellas* reflejan diferencias en la producci \acute{o} n de toxinas m \acute{a} s que variaciones en citotoxicidad por unidad de toxina antig \acute{e} nica.

La pregunta continua siendo si la toxina Shiga-like de algunas *S. flexneri* y *S. sonnei* y la toxina Shiga de *S. dysenteriae* son toxinas identicas o diferentes pero relacionadas intimamente. Hasta amino \acute{a} cidos y secuencia nucle \acute{o} tida son obtenibles por comparaci \acute{o} n de las prote \acute{i} nas o genes estructurales de las toxinas de *Shigella*; es apropiado continuar usando el t \acute{e} rmino Shiga-like para describir toxinas neutralizables por antitoxina Shiga que son producidas por serotipos de *Shigella* diferentes a *S. dysenteriae* 1.

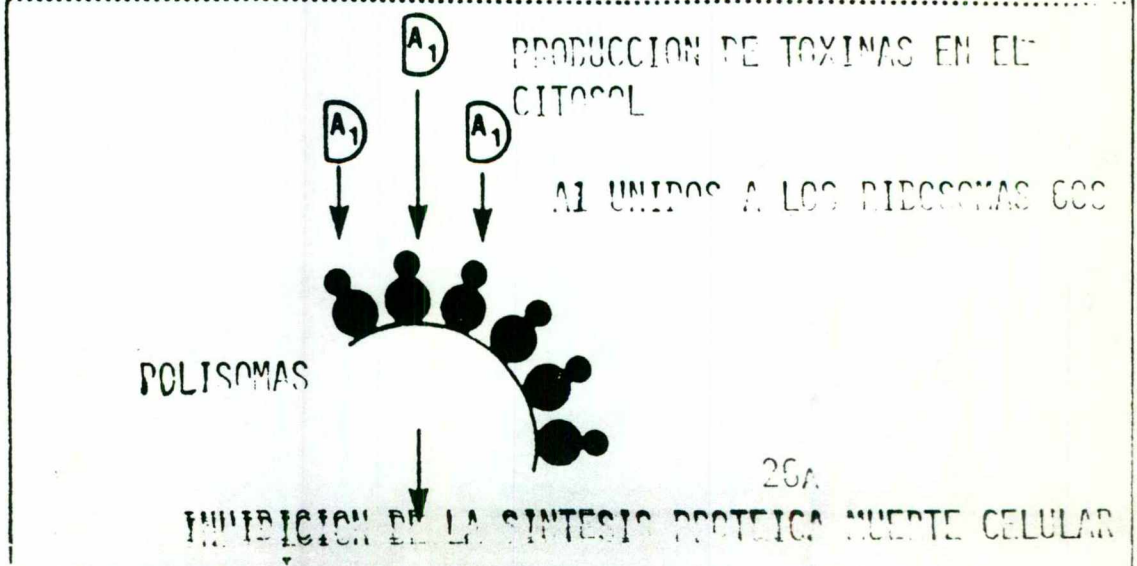
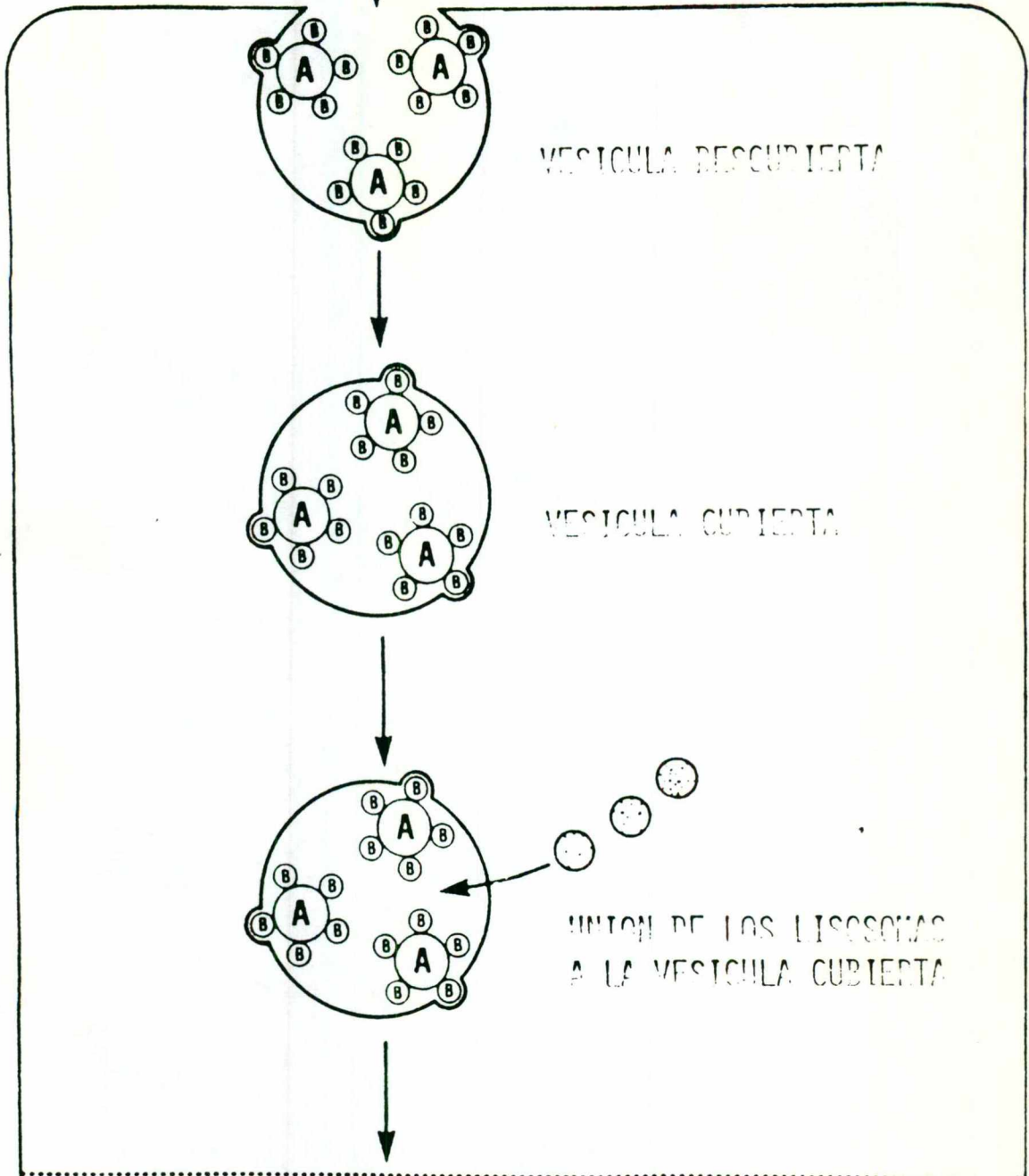
Cada subunidad de toxina Shiga juega un papel esencial en la intoxicaci \acute{o} n de c \acute{e} lulas mamarias sensitivas. La subunidad B es responsable por la uni \acute{o} n de toxinas a las c \acute{e} lulas mamarias receptoras, mientras que la subunidad A, despu \acute{e} s de proteol \acute{i} ticamente rota y reducida a el fragmento A1, es el componente responsable por la inhibici \acute{o} n de la s \acute{i} ntesis proteica en las c \acute{e} lulas blanco. Con - respecto a la localizaci \acute{o} n sobre diferentes subunidades o dominio

de las funciones que median la actividad citotóxica y unión celular, la toxina Shiga es similar a muchas otras toxinas bacterianas bifuncionales tal como toxina de colera, toxina termolábil de E. coli, toxina de diphtheria, exotoxina A de pseudomonas, y toxina pertussis. Detalles del modo de acción son representados diagramáticamente en la figura siguiente.

Diversas revisiones han sido publicadas en que la unión mediada del receptor y la introducción de toxina Shiga por células mamarias es discutida. Keusch y Jecewicz primeramente demostraron la unión específica de toxina a una membrana hepática de rata y células HeLa por medio de un ensayo directo que mide la reducción de citotoxicidad en medios de cultivo celulares. En el mismo estudio, la naturaleza química de el receptor de toxina Shiga fue analizado. El receptor fue destruido por enzimas proteolíticas, fosfolipasas y lizozima pero no por neuraminidasa o galactosa oxidasa. Mezclas competitivamente inhibidas de toxina Shiga a células HeLa, y aglutininas de germen de trigo que es conocida por poseer unión específica con afinidad para N,N',N"-triacil citotriosa bloqueo de toxina valorado por un ensayo indirecto de consumo de toxinas. Keusch y Jacewics supusieron de estos datos en el receptor para toxina Shiga sobre células mamarias puede ser una glucoproteína.

Lindberg y colaboradores fue incapaz de confirmar que derivados de citriosa exhibían la unión de toxinas Shiga a células HeLa cuando usaron un ensayo directo de unión.

TOXINA EXTERIOR



Recientemente. Keusch y colaboradores reafirmaron el carácter químico de los receptores de toxina Shiga con toxina purificada marcada con I 124 como una prueba para medir la unión de toxina a células HeLa. Ellos concluyeron que el receptor funcional (definido como el receptor que media el efecto citotóxico de la Toxina Shiga) es un nitrógeno unido a glucoproteína sobre la base de una serie de experimentos en que examinaron los efectos de tripsina, tunicamicina, beta galactosidasa, beta-N-acetil-glucosaminidasa, y varios azúcares y lectinas sobre uniones de toxinas y citotoxicidad. Reportaron, Keusch y colaboradores proponiendo que otros dos sitios de unión para toxina Shiga existían sobre las células HeLa (un tunicamicin sensible y un tunicamicin resistente), pero ninguno es un receptor funcional. Una publicación subsecuente de este laboratorio reportó que un no funcional receptor glucolípido (presumiblemente el receptor tunicamicin resistente) para células HeLa fue aislado e identificado como un globotriaosylceramida.

Lindberg y auxiliares tienen también aislados y caracterizados receptores de toxina Shiga para células HeLa. Lindberg y colaboradores estudiaron la unión de toxina Shiga purificada a una serie de glucolípidos y a células por inhibición de receptores sintéticos análogos. Estos investigadores propusieron que el receptor funcional de células HeLa es una galactosa alfa-4 galactosa (i.e. galabiosa)- conteniendo glucolípido, pero que glucoproteínas conteniendo galabiosa pueden mediar la unión de toxinas sin introducirlas (son receptores no funcionales).

De este modo Keusch y colaboradores y Lindberg y colaboradores acordaron que la toxina Shiga puede unirse específicamente a la galabiosa conteniendo glucolípidos y galabiosa conteniendo glucoproteínas sobre células HeLa. Los dos grupos desacordaron sobre cuáles de los receptores son los receptores funcionales para toxina. El carácter químico de el receptor de toxina Shiga sobre células HeLa, sugiere indirectamente que la subunidad B de la toxina Shiga se une a estos receptores; anticuerpos monoclonales de la subunidad B de toxina Shiga bloquean la unión de toxinas naturales marcadas con I 125 a la superficie de células HeLa.

La subunidad B aislada no se une a células HeLa intactas pero se une al receptor glucolípido extraído de estas células.

Un glucolípido identificado como un globotriaosylceramida que une toxina Shiga marcada con I 125 fue aislado de yeyuno de conejo y puede ser el mismo que el de las microbellosidades de la unión membranosa, sitio descrito por Fuchs y colaboradores. Expresamente estos receptores glucolípidos sobre las bellosidades de la membrana intestinal de conejo se incrementan con la edad del conejo. Esta observación sobre la desarrollada expresión de receptores intestinales de toxina Shiga puede explicar por que segmentos ligados de ileon de conejo recién nacido son resistentes a los efectos secretorios de la toxina Shiga.

Solamente ciertas sublíneas de células HeLa y Vero son altamente sensitivas a toxinas Shiga; células Hep-2 son ligeramente sensitivas a la toxina, mientras que células WI 38, células de --

riñon de hamster bebé, células de ovario de hamster chino, células adrenales Y-1, células L. y una línea celular de melanoma humano son resistentes a toxina Shiga.

Eiklid y Olsnes observaron que la toxina Shiga marcada con I 125 se limita a líneas celulares toxina sensitivas y a algunas pero no todas, líneas toxina insensitivas. Estos descubrimientos indicaron que la presencia de receptores de toxinas sobre una célula eucariotica es necesaria pero no suficiente para que la toxina Shiga mate a esta célula; la toxina debe ser introducida y debe alcanzar los ribosomas blanco.

La toxina Shiga parecer entrar a la célula HeLa toxina sensitivas por un mecanismo endocítico.

Varios grupos de investigadores han demostrado que la toxina Shiga inhibe la síntesis proteica en células eucariotas. Análisis del mecanismo por el que la Toxina Shiga inhibe la síntesis proteica son modelados sobre estudios previos sobre el modo de acción de otras toxinas bacterianas. El Prototipo de inhibición de síntesis proteica por toxinas bacterianas son toxinas de difteria y exotoxinas A de Pseudomonas.

Estas toxinas inactivan el alargamiento del factor 2 (EF-2) por NAD dependiente de adenosin difosfato (ADP) RIBOSILACION de un residuo de histidina modificada llamada diphtamida; inactivación de EF-2 inhibiendo el alargamiento de la cadena peptídica. Algunas toxinas Shiga también inhiben el alargamiento de la cadena peptídica.

Obrig y colaboradores fundamentaron que la toxina Shiga no afecta directamente a EF-2 pero afecta EF-1 dependiente de reacciones. De este modo, Obrig y colaboradores y Brown y colaboradores concluyeron que EF-1 dependiente de reacciones unido a ácido ribonucleico

aminoacil transferasa es el sitio primario de acción de la toxina Shiga. De que manera la toxina Shiga altera EF-1 dependiente de los pasos determinantes de la síntesis proteica. Una posible explicación propuesta por Obrig y colaboradores es que la toxina Shiga modifica estructuralmente las subunidades ribosomales 60s, que resulta en afinidad reducida de EF-1 (y subsecuentemente EF-2) por el ribosoma. Obrig y colaboradores en un reporte separado propuso que, la toxina Shiga exhibe actividad ribonucleasa (RNasa) con RNA (rRNA) ribosomal 5s ó 5.8s descubierto de subunidades ribosomales 60s suplentes como substratos; el rRNA 28s no fue probado. En el mismo reporte, Obrig y col. presentaron evidencia que otros dos ribosomas son inactivados por toxinas, ricin y phytolectin, también exhiben actividad RNasa específica para rRNA 5s ó 5.8s como substratos. Sin embargo, lastres toxinas generaron diferentes fragmentos de RNA, lo cual sugirió diferentes sitios de adherencias sobre los RNAs. Discutido por Obrig y col. una posible explicación para las uniones con toxina Shiga es que la preparación de toxina contenía un RNasa contaminado. El argumento presentado por Obrig y col. contra tal posiblemente haya sido que el perfil de inactivación por el calor para la RNasa y la actividad inhibitoria de síntesis proteica de la toxina Shiga fue similar. Fue notado que a pesar de la aparente actividad RNasa de toxina Shiga contra rRNA descubier-to, no cambió en alguno de los tres rRNAs presentes en ribosomas intactos después de exponerlos a la toxina Shiga.

Evidencia que las toxinas Shiga y Shiga-like son producidas en vivo en cantidades suficientes para arrancar una respuesta inmune fue primeramente presentada por Keusch y Jacewicz. Estos investigadores reportaron que el suero de pacientes con Shigellosis debida a cualquiera de *S. flexneri* y *S. sonnei* conteniendo anticuerpos que pueden neutralizar los efectos citotoxicos de toxina Shiga sobre células HeLa. En el mismo estudio, respuestas de anticuerpos neutralizando toxinas Shiga en pacientes con previas infecciones con *S. dysenteriae* 1 y *S. dysenteriae* 2 fueron también demostradas. La respuesta antitoxina Shiga en suero para ambas infecciones naturales y experimentales de humanos fue reportada siendo limitadas a las clases de cadena pesada de IgM. La neutralización de toxinas en conejos hiperinmunes ha sido reportado siendo limitado a la IgM y a la IgG. Las bases para estos resultados discrepantes no han sido fundadas. La pregunta de si los anticuerpos de IgA secretoria anti toxina Shiga en el tracto intestinal protegeran contra diarrea o disenteria causada por *Shigella* spp. no ha sido resuelta. Sin embargo en claros estudios con monos rhesus con altos niveles de anticuerpos antitoxina Shiga no protegieron contra infección oral de *Shigella*. Monos que son vacunados parenteralmente con toxina Shiga inactivada con formol desarrollaron niveles de antitoxina en suero lo cual los protegió contra una inyección con dosis letal al 50% para ratones, pero tuvieron diarrea y disenteria tan severa como (o más severa que) los controles inmunizados hechos cuando fueron alimentados con *S. dysenteriae* 1.

Dos tipos de variantes antigénicas podrían potencialmente existir entre la familia de toxinas Shiga y Shiga-like:

(i) Toxinas que no son neutralizadas por un simple antisuero de referencia.

(ii) Toxinas parcialmente reactivas que son neutralizadas por un simple antisuero de referencia pero no son antigénicamente idénticas.

Variantes no reactivas han sido detectadas entre las toxinas Shiga producidas por diferentes clases de *S. dysenteriae* 1. Prado y col. examinaron lisados sómicos de 35 clases de *Shigella* y encontraron que 86% de los lisados (otros diferentes de *S. dysenteriae* 1) no pueden ser neutralizados por anti-toxina Shiga. Ya sea que la citotoxina presente en estas clases son relacionadas a toxina Shiga pero no son restos neutralizables para ser determinados.

Las mutaciones solamente resisten al cloro en *S. dysenteriae* 1 que reduce el nivel de citotoxina producida. Las mutaciones en estas clases no fueron mapeadas, no fue el mecanismo por el que ellos redujeron la producción de toxina determinada. En realidad, los mutantes resistentes al cloro fueron originalmente clasificados como no-toxigénicos más que como productores de bajos niveles de toxina a causa del ensayo de citotoxicidad usado en los primitivos 1970, fue menos sensitiva que la ahora disponible.

Los genes para la toxina Shiga de *S. dysenteriae* 1 y la Shiga-like de *S. flexneri* parecen ser localizados en el cromosoma; esto no prueba que genes de toxina sobre plásmidos o bacteriófagos de *shigella* spp hayan sido encontrados.

Timmis y col. reportaron la primera formación en vivo de toxina Shiga determinante. Estos investigadores generaron una serie de plásmidos R' en *C. coli* K-12 que transportan secciones del cromosoma de *S. dysenteriae* 1.

El plásmido fue construido para transportar porciones de el cromosoma de *S. dysenteriae* 1 previamente demostrado, para *S. flexneri* para correlacionarlo con la actividad del organismo para provocar secreción de fluidos en segmentos ileales de conejo. Los resultados del estudio por Timmis y col. localizaron los genes de toxinas Shiga (designado sht) cerca de "lado distal met B de arg E". El cierre del eslabón de sht hacia arg E está en algún desacuerdo con el reporte de Sansonetti y col. quien tentativamente localizó la región sobre el cromosoma de *S. flexneri* para producción de fluído en el conejo próximo al locus negativo lisina descarboxilasa (LDS) y en la región rha-mtl. Timmis y col. ofrecieron dos verdaderamente plausibles explicaciones para estas diferencias en la localización de los genes de toxina:

1.- Los mapas de *S. dysenteriae* 1 y *S. flexneri* no pueden ser exactamente el mismo, y

11.- *S. dysenteriae* 1 puede transportar una segunda copia de sht.

El último posiblemente es apoyado por la mención de un descubrimiento inédito que un segundo determinante para producción de citotoxina es transportado sobre un plásmido R'-asm, que también transporta el locus negativo LDS de *Shigella* spp. Timmis y col. de clararon que ellos clonaron prósperamente la toxina determinante

del plásmido R'-arg E in vitro. Fueron de considerable interés para comparar la estructura del operon y secuencia nucleótida de sht con la estructura genética de E. coli SLT-I y E. coli SLT-II. Para ese fin, la estructura genética para toxina Shiga ha sido recientemente clonada en nuestro laboratorio.

(13, 14, 15, 17, 22, 23)

PATOGENIA

Si se considera la patogenia de las infecciones bacterianas pueden dividirse éstas en tres grupos:

1.- Los agentes patógenos no invaden los tejidos; se multiplican en la luz del intestino y producen una exotoxina que es responsable de la diarrea. Pertenece a este grupo el vibrión colérico y algunas cepas toxigénicas de *C. coli*.

2.- Los agentes patógenos invaden la mucosa del intestino, inflamandola y causando ulceraciones. Pertenecen a este grupo *Shigella* y algunas cepas de *C. coli* "invasoras".

3.- Los agentes patógenos penetran a las células de la mucosa intestinal pero no la ulceran ni destruyen. Estos agentes son *Salmonellas*.

Los microorganismos de género *Shigella* son los que con más frecuencia causan diarreas infecciosas. En los países en condiciones sanitarias deficientes predomina el grupo flexneri. En cambio son menos frecuentes los grupos sonnei, boydii y dysenteriae. En conjunto las *Shigellas* son responsables del 25% de las diarreas infecciosas, si bien en brotes epidémicos pueden ser responsables de más de dos tercios de los casos.

Todas las especies de *Shigellas* son patógenas para el hombre mediante un mecanismo invasor de la mucosa intestinal; la bacteria penetra por pinocitocis a la célula epitelial, llega a la lámina propia, produce allí una reacción inflamatoria con infiltración celular de polimorfonucleares y, gracias a la acumulación de

metabolitos y la liberación de endotoxinas, da lugar a hipoxia y otras condiciones conducentes a la formación de úlceras. Las lesiones más notables se encuentran en el recto y colon descendente, y van disminuyendo en importancia, en sentido proximal a lo largo del colon.

Es interesante señalar que la infección por *Shigella* es rarísima en el niño recién nacido y su frecuencia aumenta progresivamente hasta alcanzar el máximo a la edad de dos años.

La *Shigella dysenteriae* produce también una enterotoxina citotoxicas para las células del endotelio capilar.

El periodo de incubación es corto, de 1 a 4 días. La iniciación es brusca, con dolores, colicos, diarreas, tenesmo y fiebre. El cuadro clínico es muy severo y reviste especial gravedad, particularmente en los niños, por deshidratación y acidosis.

Como es raro que las *Shigellas* virulentas atraviesen la mucosa intestinal, los hemocultivos suelen ser negativos.

Se ha probado que la *S. dysenteriae* elabora una exotoxina citotóxica, enterotóxica y neurotóxica; no obstante, aun no se aclara su papel patógeno.

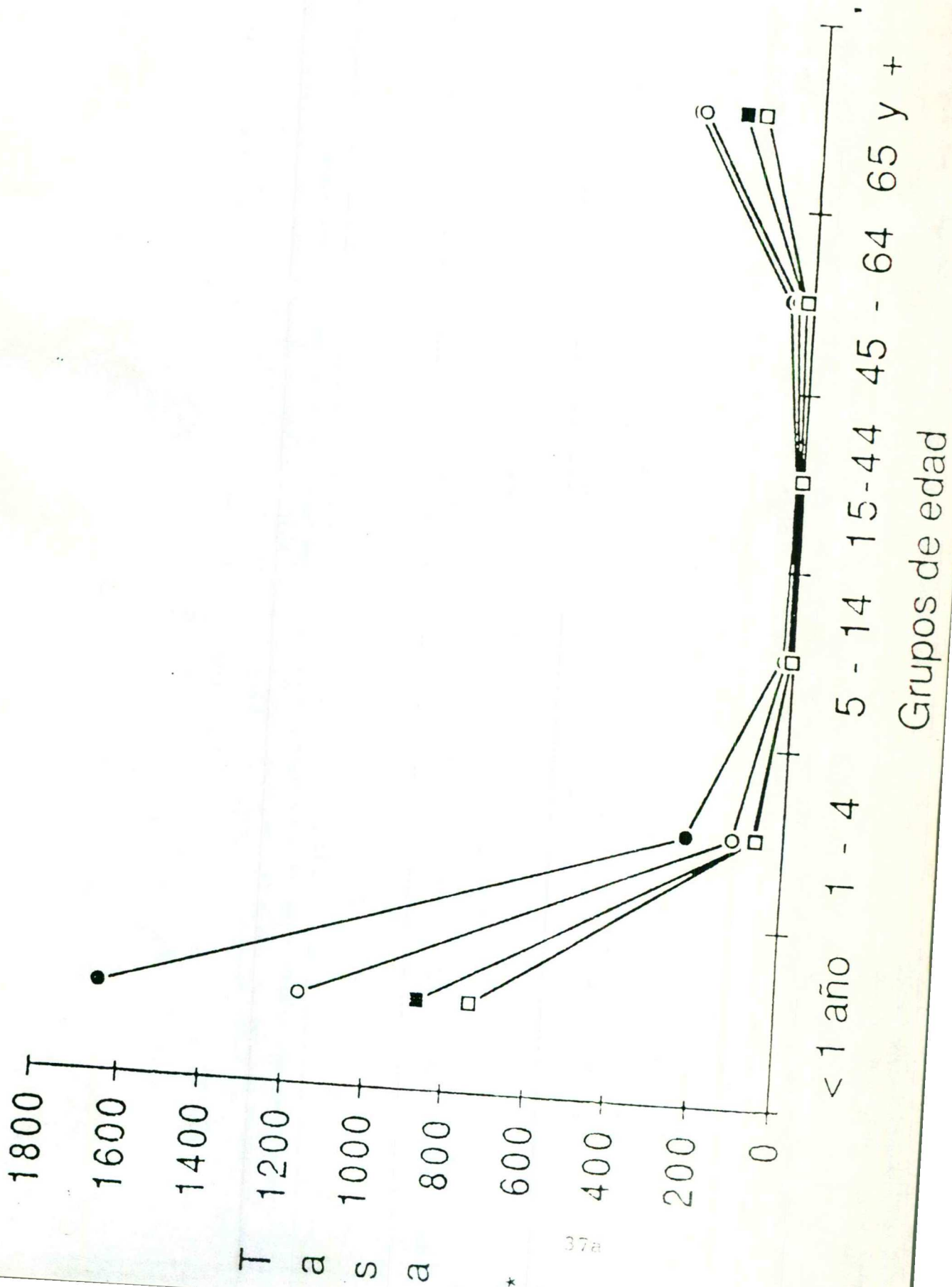
Una vez que un individuo se infecta, empieza a eliminar el microorganismo por heces fecales, situación que suele desaparecer durante la convalecencia si bien, excepcionalmente, se prolonga por periodos variables.

La transmisión del germen tiene lugar a través de las materias fecales provenientes de enfermos y portadores, ya sea en forma

directa de persona a persona o mediante la contaminación de alimentos y bebidas, por las manos a través de vectores como moscas, cucarachas, hormigas, etc. que entran en contacto con las evacuaciones y luego transportan el germen a los alimentos.

(1, 9, 6, 10, 12, 13, 14, 19, 24)

**MORTALIDAD POR INFECCIONES INTESTINALES POR GRUPOS DE EDAD
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS 1970 - 1983**



DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LA DISENTERIA

	Amibiasis	Shigelosis	Tricocefalosis	Carcinoma de colon
Inicio	Rápido	Brusco	Rápido	Lento
No. de evacuaciones	10/24 horas	10/24 horas	10/24 horas	3-4/24 horas
Aspecto	Moco y sangre	"Jalea de fresa"	Moco y estriás	Moco y sangre
Dolor	++	++++	++	+ -
Fiebre	Discreta	Elevada	Negativa	Variable
Ataque al estado general	++	++++	+	++++
Expl. abdomen	Colon doloroso	Resistencia muscular, dolor generalizado	Colon doloroso	Tumoración en ocasiones, colon izq. doloroso
Edad	Niños y adultos	Niños y adultos	Niños	Adultos
Prolapso rectal	-	-	+	-
Laboratorio	Amiba en fresco+	Coprocultivo +	Copros +	Anemia
Tacto rectal	-	-	-	Puede descubrir tumoración
Rx	No característico	-	-	Tumoración
Rectoscopia	Ulceras en botón de camisa	Lesiones ulcerosas en toda la mucosa	Ulceraciones y se pueden observar los parásitos	Tumoración
Evolución	Aguda	Aguda	Subaguda	Crónica

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA DIARREA INFECCIOSA*

Edad	Escherichia coli		Shigella		Salmonella		Entamoeba histolytica		Giardia lamblia		Rotavirus	
	Toxigénica	Invasora	Todas	Todas	Todas	Todas	Todas	Todas	Todas	Todas	Todas	7 años
Estación del año	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Forma de inicio	Brusca	Brusca	Gradual	Gradual	Gradual	Gradual	Gradual	Gradual	Gradual/ brusca	Gradual	Brusca	Brusca
Vómito	++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
Dolor abdominal	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-
Tenesmo	-	?	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-
Fiebre 38.5°	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
Tono esfínter anal	?	?	Disminuido	Normal	Normal	Normal	Disminuido?	Disminuido?	Normal	Normal	Normal	Normal
Heces fecales:												
Volumen	Abundante	Escaso	Escaso	Moderado	Moderado	Moderado	Escaso	Escaso	Abundante	Abundante	Abundante	Abundante
Consistencia	Líquida	Agudo	Aguda/ viscosa	Aguda	Aguda	Aguda	Aguda	Aguda	Líquida/ aguada	Líquida/ aguada	Líquida	Líquida
Sangre	-	++	++	+	+	+	+	+	-	-	-	--
Moco	++	+	++	-	-	-	+	+	--	--	-	-
Pus	-	++	++	--	--	--	-	-	-	-	-	-
Leucocitos fecales	-	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-
Duración días	5-10	?	2-14	3-10	3-10	3-10	7-14	7-14	Crónica	Crónica	5-7	5-7
Intolerancia a lactosa	-	?	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

* Tomado de Muñoz, O. Manifestaciones clínicas de la diarrea infecciosa. En progresos recientes en Infectología IMSS. 1978

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

Para lograr el aislamiento de Shigella en materias fecales, es más importante elegir el material adecuado para la inoculación, que elegir los medios adecuados. Para la inoculación deben usarse fragmentos de pus o de mucosidades. Los escobillones rectales recubiertos con suero también han sido recomendados pero los aislamientos son menos frecuentes en estas muestras. Algunos laboratoristas dan valor al exámen microscópico de películas húmedas. Los exudados celulares abundantes, compuestos principalmente de células polimorfonucleares y eritrocitos, son según algunos, característicos de la disenteria por Shigella.

Si no se sospecha específicamente una disenteria por Shigella se puede hacer el siguiente seguimiento para el aislamiento ya sea de Salmonella o de Shigella:

1.- Inocular la muestra directamente en una placa de agar de MacConkey o EMB para el aislamiento primario de todas las especies de bacilos gram positivos entéricos.

2.- Inocular directamente una placa de agar SS o HE para el "screening" selectivo de Salmonella y Shigella. Usar agar Sulfito de Bismuto si hay presunción clínica de fiebre tifoidea.

3.- Enriquecer la muestra inoculando en forma relativamente abundante el Caldo de Selenito, Terrationato o GN durante 6 a 12 horas. Subcultivar en SS. HE ó XLD luego de 4 a 6 horas de incubación a 35°C.

4.- Incubar todas las placas de cultivo a 35°C durante 24 a 48 horas. Basándose en las características morfológicas y bioquímicas (refiriéndose a los hidratos de carbono y fuentes de azufre que contienen los medios usados), transferir las colonias sospechosas a una serie de medios diferenciales o llevar a cabo su tipificación serológica cuando sea aplicable.

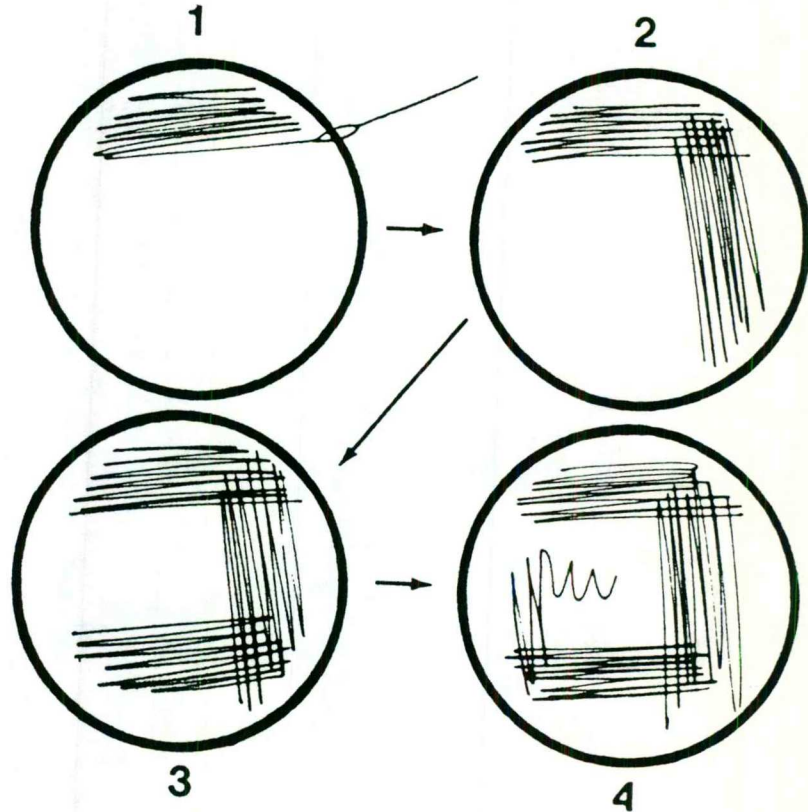
Sin embargo, el caldo GN se utiliza con mayor frecuencia en laboratorios clínicos pues es menor inhibidor del desarrollo de muchas de las cepas más exigentes de Shigella. El enriquecimiento de muestras fecales en Caldo GN durante 4 a 6 horas y subcultivo en agar XLD, es la técnica óptima para el aislamiento de Shigella en casos sospechosos de disentería bacilar. Por lo que el seguimiento en estos casos sería el que se describe a continuación:

1.- Enriquecimiento de una muestra relativamente abundante de heces fecales, de preferencia como ya se dijo anteriormente con fragmentos de pus o de mucosidades e incubarlo a 35°C durante 6 a 12 horas.

2.- Al término de la incubación subcultivar en agar XLD e incubar a 35°C durante 24 a 48 horas. El subcultivo se hace con estriado para aislamiento que se describe adelante.

3.- Transferir las colonias sospechosas a una serie de medios diferenciales o llevar a cabo su tipificación serológica.

Estriado apropiado para el aislamiento:



Se toma una de las colonias sospechosas y se inoculan los siguientes medios diferenciales para la identificación de la bacteria, aquí mismo damos los posibles resultados teóricos con los que se puede hacer la comparación:

(ver en la siguiente hoja).

S H I G E L L A

MEDIOS	spp	dysenteriae	flexneri	boydii	sonnei
Glucosa y gas	+*	A 3	A	A	A
Lactosa	-*	-	-	-	A6
Sacarosa	-*	-	-	-	A6
Manitol	+ o -	-	A7	A	A9
Dulcitol	d	V-	-	V	-
Salicina	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-
Sorbitol	d	-	-	-	-
Arabinosa	d	-	-	-	-
Rafinosa	d	-	-	-	-
Ramnosa	d	-	-	-	-
Melibiosa		-	-	-	-
Trehalosa		NR	NR	NR	NR
Xilosa		-	-	V	V
Amigdalina		-	-	-	-
IMViC					
Indol	- o +	V	V	V	-
Rojo de Metilo	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-
Citrato de Simmons	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-
Málonato	-	-	-	-	-
Gluconato	-	-	-	-	-
Ureasa	-	-	-	-	-
Motilidad	-	-	-	-	-
Gelatina (22°C)	-	-	-	-	-
KCN	-	-	-	-	-
Arginina dihidrola sa:NH ₃	-	-	-	V-	V
Lisina descarboxilasa-		-	-	-	-
Ornitina descarboxi lasa	d*	-	-	-	+
Fenilalanina desami nasa	-	-	-	-	-
ONPG	V+	V+	V+	V+	V+
Esculina	-	-	-	-	-

* Ciertos tipos de *S. flexneri* producen ga; los cultivos de *S. sonnei* fermentan lactosa y sacarosa lentamente y descarboxilan ornitina; d diferentes tipos bioquímicos; 3 *S. flexneri*, serotipo 6, producción de gas positiva (escaso volumen); 6 puede ser retardada; 7 *S. flexneri* serotipo 6, puede ser manitol negativa; 9 Rápida; Producción variable de gas; A Acido; V- Resultados variables, en su mayoría negativos; V+ Resultados variables, en su mayoría positivos; NR No se dispone de resultados.