

Jornadas Provinciales de Enfermedades Transmitidas por Alimentos SUH, Botulismo y Brotes Alimentarios

Visión del Laboratorio Nacional de Referencia en la vigilancia de Diarreas, SUH y Brotes Alimentarios

Mendoza: 23-24 de abril de 2015

Marta Rivas
Servicios Fisiopatogenia
INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”
Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos
Ministerio de Salud
mrivas@anlis.gov.ar



Enfermedad Diarreica

- ❑ Es un problema grave en Salud Pública, con altas tasas de morbi-mortalidad en países en vías de desarrollo
- ❑ 1.700 millones de episodios por año (OMS, 2013)
- ❑ 19% de la mortalidad total en la niñez
- ❑ Segunda causa de muerte en niños < 5 años
- ❑ 1,87 millones de niños < 5 años mueren por año
- ❑ 73% de esas muertes se concentran en solo 15 países en desarrollo
- ❑ África y Asia Sudoriental acumulan el 78% de todas las muertes por diarrea infantil en los países en desarrollo
- ❑ En los países pobres, cada niño sufre 3 episodios/año
- ❑ Dependiendo de los países, del 15 al 70% de los casos son causados por alimentos con contaminación microbiológica, incluyendo el agua

Enfermedad Diarreica: Definición

Síndrome clínico de etiología diversa producido por la alteración en el transporte y absorción de electrolitos y agua, que genera el incremento en el número de deposiciones diarias y alteración en la consistencia de las heces. Se acompaña de otros signos y síntomas como náuseas, vómitos, dolor abdominal, deshidratación y ocasionalmente fiebre

Enfermedad Diarreica: Etiología y mecanismos de transmisión

□ Etiología infecciosa

- bacteriana,
- viral
- parasitaria

□ Mecanismos de transmisión

- Transmisión directa: por contacto persona a persona, ruta fecal-oral
- Transmisión indirecta: agua o alimentos contaminados

Enfermedad Diarreica: Tipos de Diarrea

1. Diarrea aguda o secretora: localización en intestino delgado, reducción de superficie de absorción o secreción de enterotoxina, alteración del flujo de agua y electrolitos, leucocitos escasos (0-5/campo). (Ejemplos: *V. cholerae*, ETEC, RV, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp.)
2. Diarrea aguda sanguinolenta: localización en intestino delgado distal o colon, multiplicación en mucosa o secreción de citotoxina, destrucción parcial o total de la célula, sangre, mucus, pus, leucocitos (>20/campo). Puede ocurrir septicemia. (Ejemplos: *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium difficile*, EIEC, STEC)
3. Diarrea persistente o prolongada: localización en intestino delgado distal o colon, persiste mas de 14 días. Multiplicación con producción de toxinas y formación de biofilm. Puede provocar infección extraintestinal severa (Ejemplo: EAEC)
4. Diarrea leve a moderada y colitis pseudomembranosa: por cambios de la flora intestinal por antibióticos, entre otros factores de riesgo. (Ejemplo: *Clostridium difficile*)

Enfermedad Diarreica: Factores de riesgo y protección

FACTORES DE RIESGO

a) Condiciones socio-económicas:

1. Hacinamiento
2. Higiene deficiente
3. No acceso al agua potable
4. Falta de refrigeración de los alimentos
5. Sistema de eliminación de excretas ineficiente
6. Falta de acceso a la información
7. Dificultad de acceso a los servicios de salud
8. Analfabetismo
9. Desocupación

b) Factores del huésped:

1. Edad menor a 1 año
2. Falta de lactancia materna exclusiva en los primeros 6 meses de vida
3. Uso de biberones
4. Desnutrición
5. Inmunosupresión

FACTORES DE PROTECCIÓN

1. Lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses de vida
2. Alimentación complementaria adecuada a partir de los 6 meses
3. Medidas higiénicas adecuadas

Enfermedad Diarreica: Mecanismos de defensa y patogenicia

Mecanismos de defensa:

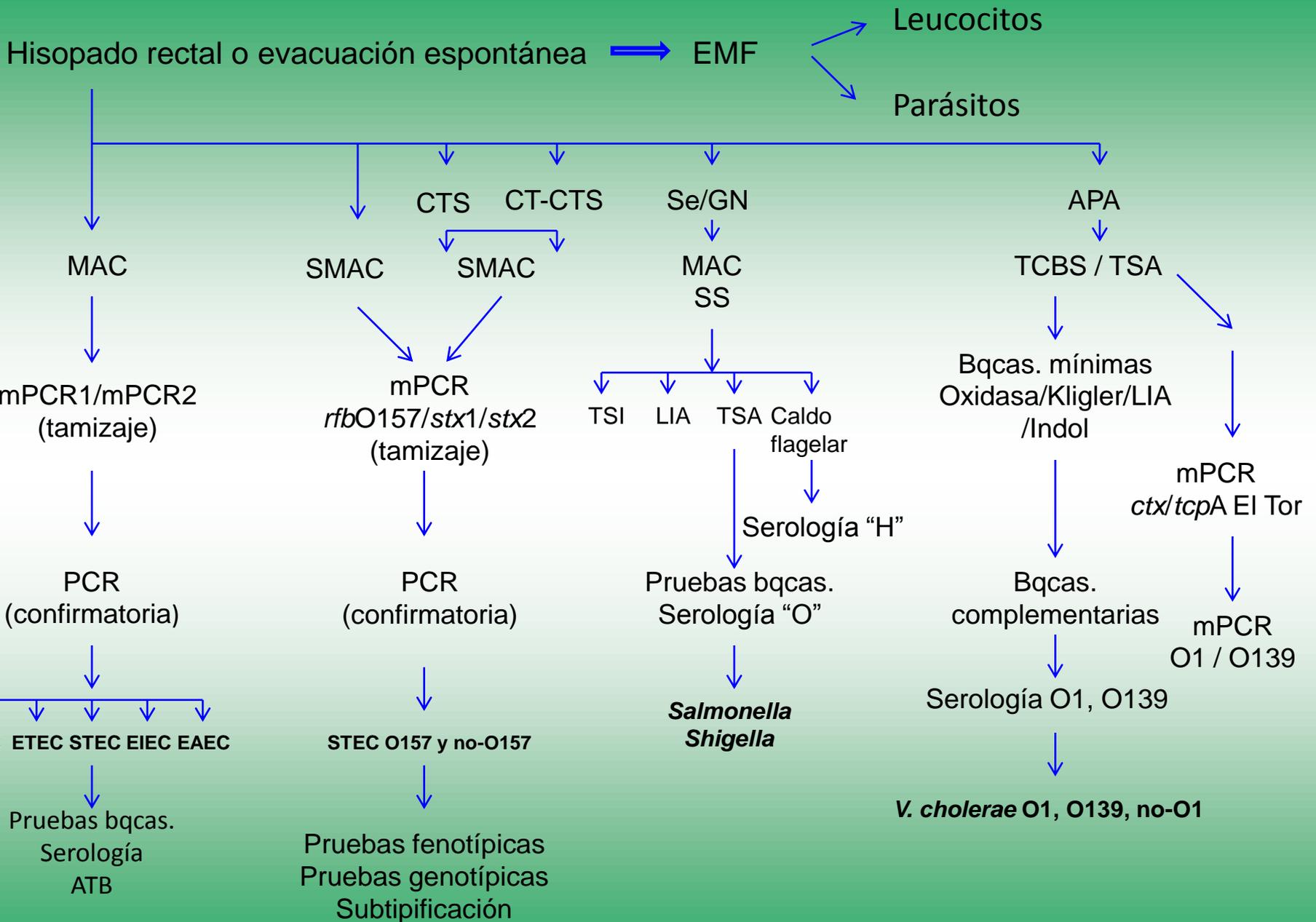
1. En boca: actividad antimicrobiana de la saliva
2. En estómago: pH ácido
3. En intestino: peristaltismo, secreción de mucus, producción de sustancia antimicrobianas (lactoferrinas, IgA secretoras), competencia con la flora normal

Patogenicia:

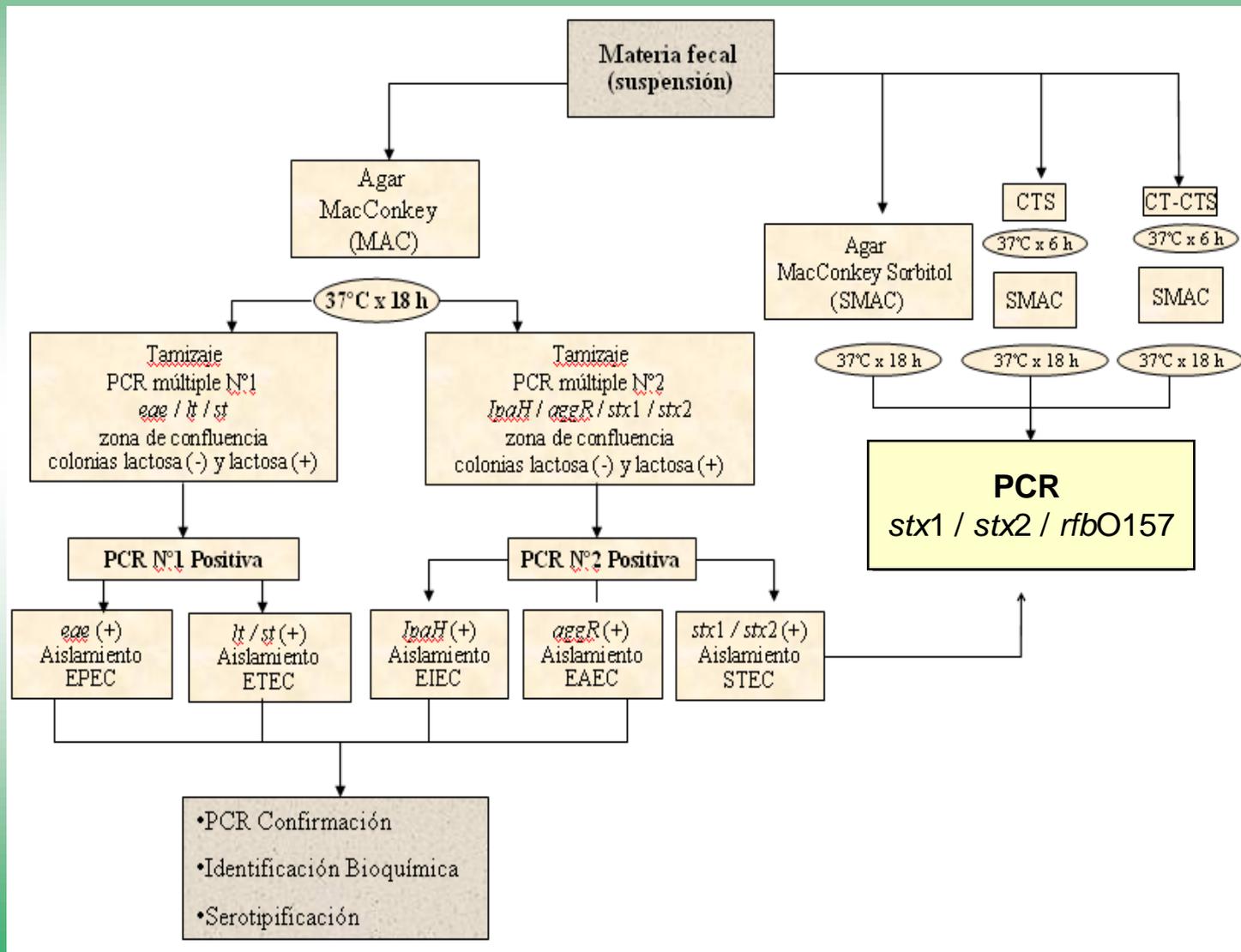
1. Quimiotactismo
2. Adherencia
3. Toxinas
 1. Citotónicas
 2. Citotóxicas
4. Invasividad

Enfermedad Diarreica: Mecanismos patogenia

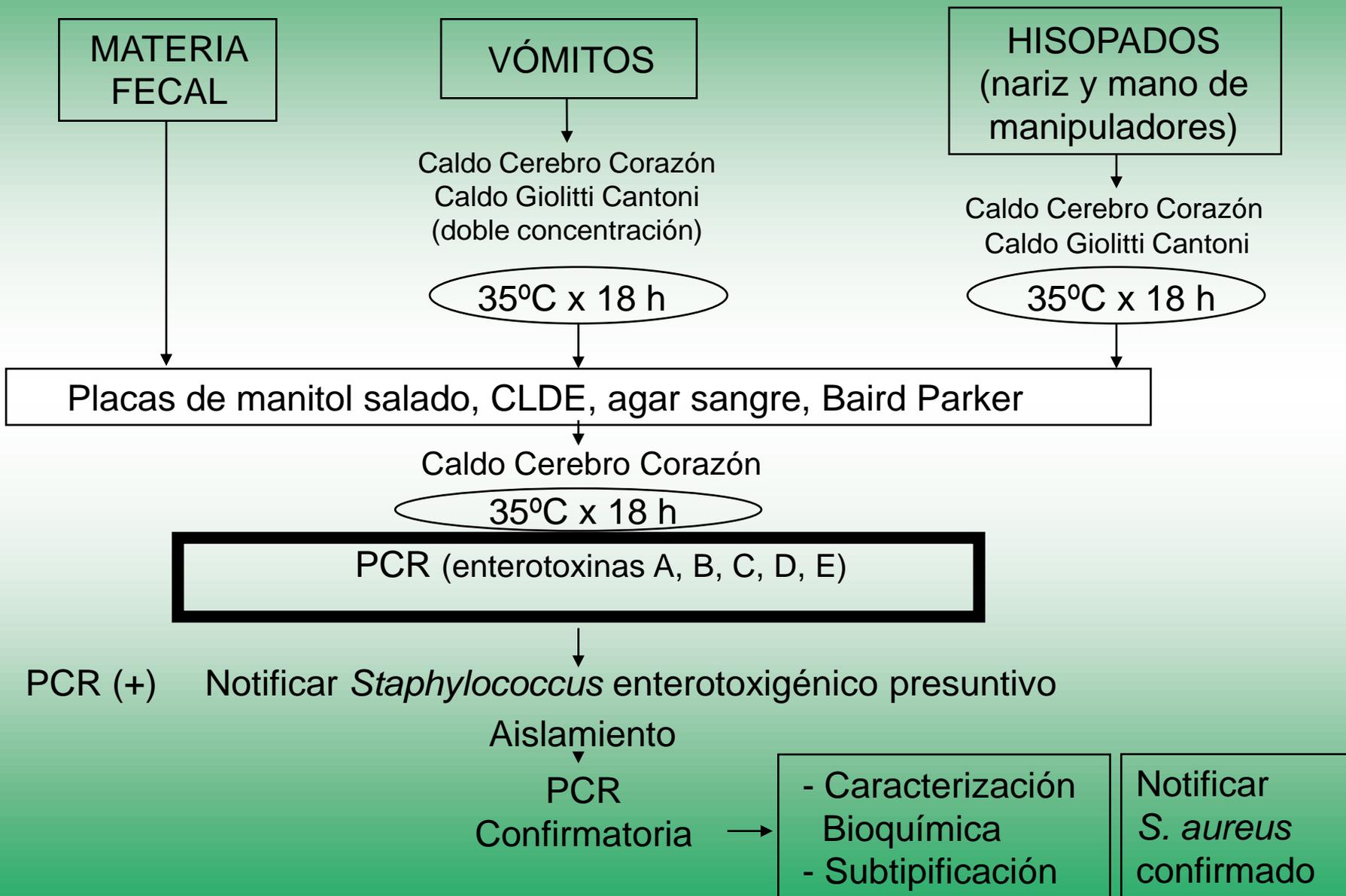
1. Adherencia a la mucosa intestinal y producción de enterotoxina (*Vibrio cholerae*, ETEC)
2. Adherencia a la mucosa intestinal y destrucción de las microvellosidades (EPEC, STEC)
3. Invasión de la mucosa y multiplicación intraepitelial (*Shigella* spp., EIEC)
4. Translocación a nivel de mucosa y proliferación en lámina propia y nódulos mesentéricos (*Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*)
5. Translocación e infección generalizada (*Salmonella* Typhi y Paratyphi A y B)



Aislamiento de *E. coli* diarreigénico a partir de materia fecal



Algoritmo para la detección y caracterización de *Staphylococcus enterotoxigénico*



Algoritmo para la detección y caracterización de *Clostridium perfringens*

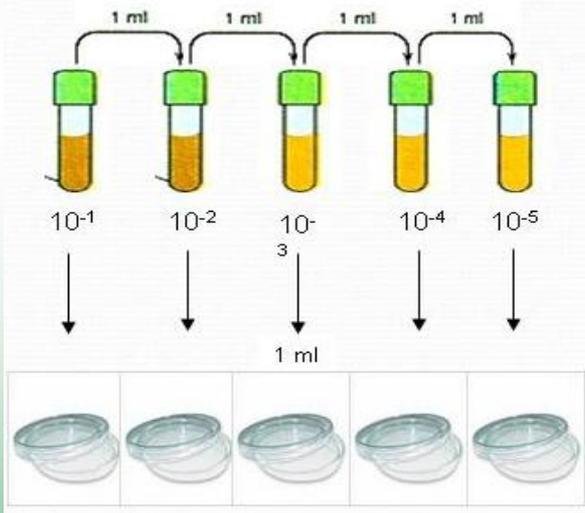
MATERIA
FECAL



Suspensión madre
1 (g ó ml) :10 SF

VÓMITOS

SHOCK ALCOHOLICO → etanol absoluto (a partir de 1 ml suspensión de MF)
Agitación a temperatura ambiente, 1 h
o **SHOCK TERMICO** → 75 °C 15 min



Realizar diluciones decimales en SF

Inocular 0,1 ml en agar selectivo y diferencial
Triptosa Sulfito Cicloserina (TSC)

Cultivo en anaerobiosis 37 °C
durante 24-48 h

Colonias negras por reducción del sulfito a sulfuro:
recuento y enumeración de UFC/g o ml

- Identificación bioquímica
- Ensayos de citotoxicidad
- PCR perfil toxigénico
- Subtipificación PFGE

Algoritmo para la detección y caracterización de *Bacillus cereus* en casos de brote

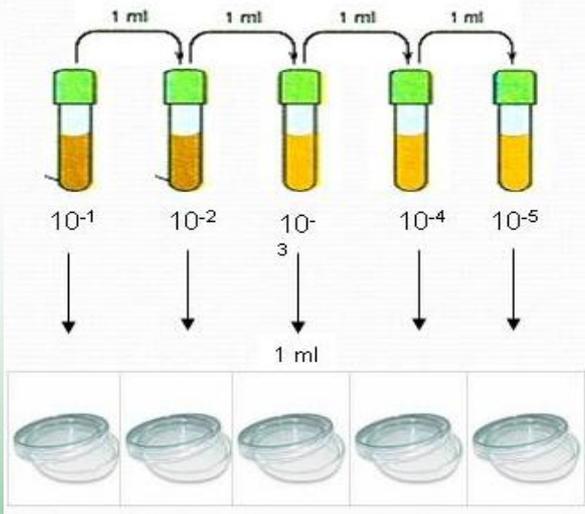
MATERIA
FECAL



Suspensión madre
1 (g ó ml) :10 SF

VÓMITOS

SHOCK ALCOHOLICO → etanol absoluto (a partir de 1 ml susp de MF)
Agitación a temperatura ambiente, 1 h
o SHOCK TERMICO → 75 °C 15 min



Realizar diluciones decimales en SF

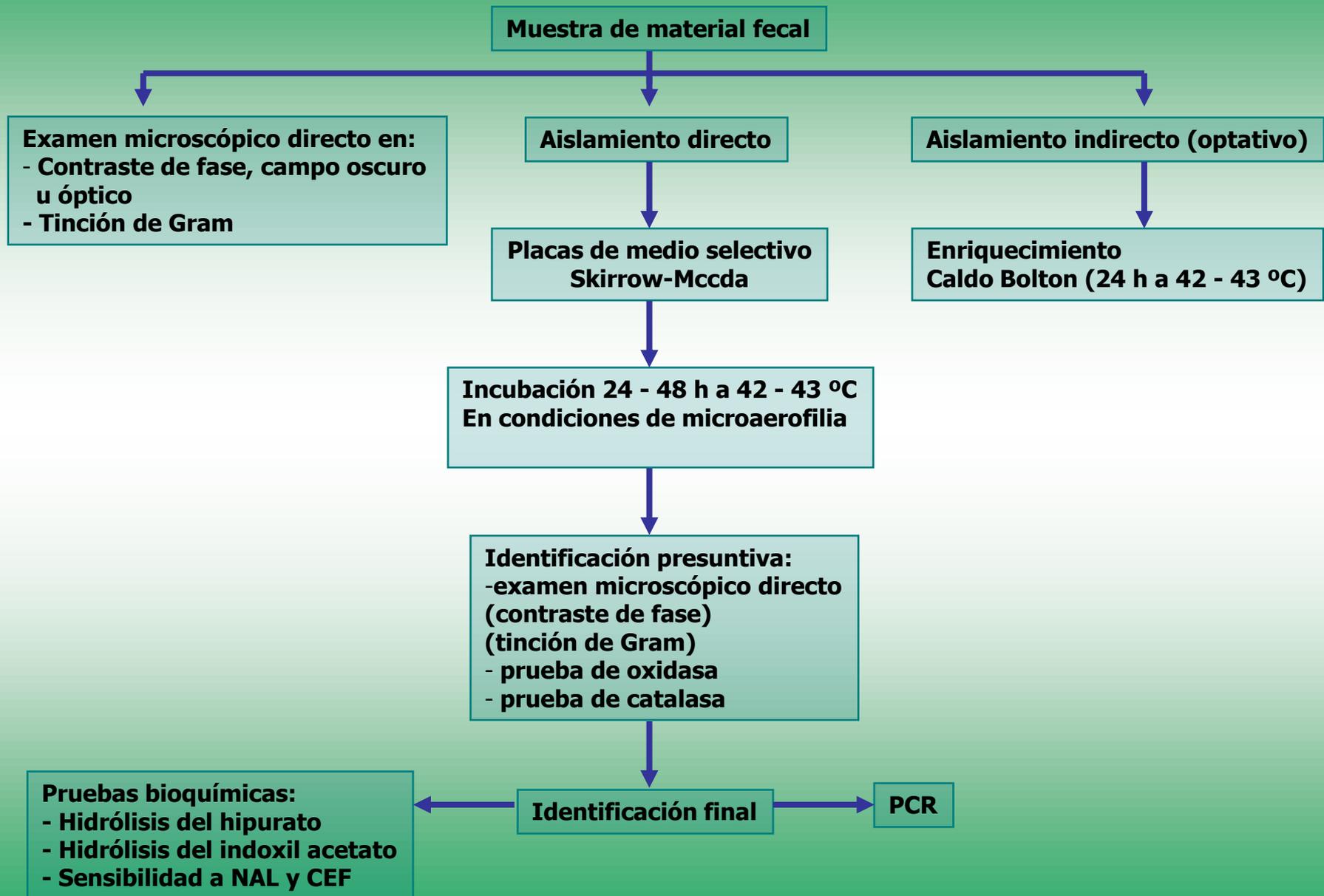
Inocular 0,1 ml en agar selectivo y diferencial
MOSSEL

Cultivo en aerobiosis 37 °C
durante 24-48 h

Colonias con halo de precipitación por hidrólisis
de la lecitina
recuento y enumeración de UFC/g o ml

- Identificación bioquímica
- Ensayos de citotoxicidad
- PCR perfil toxigénico
- Subtipificación PFGE

Aislamiento de *Campylobacter* spp. a partir de materia fecal



Argentina

Estrategias de Vigilancia Epidemiológica

- ❑ Notificación de casos clínicos de diarrea al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS-Módulo C2), es obligatoria, semanal, agrupada por edad y sexo
- ❑ Vigilancia Centinela: Unidades Centinela de SUH y Diarreas
- ❑ Vigilancia Basada en Laboratorio (SNVS-Módulo SIVILA): Red Nacional de Diarreas y Patógenos Bacterianos de Transmisión Alimentaria
- ❑ Vigilancia Molecular: PulseNet de América Latina y El Caribe

Red Nacional de Diarreas y Patógenos Bacterianos de Transmisión Alimentaria

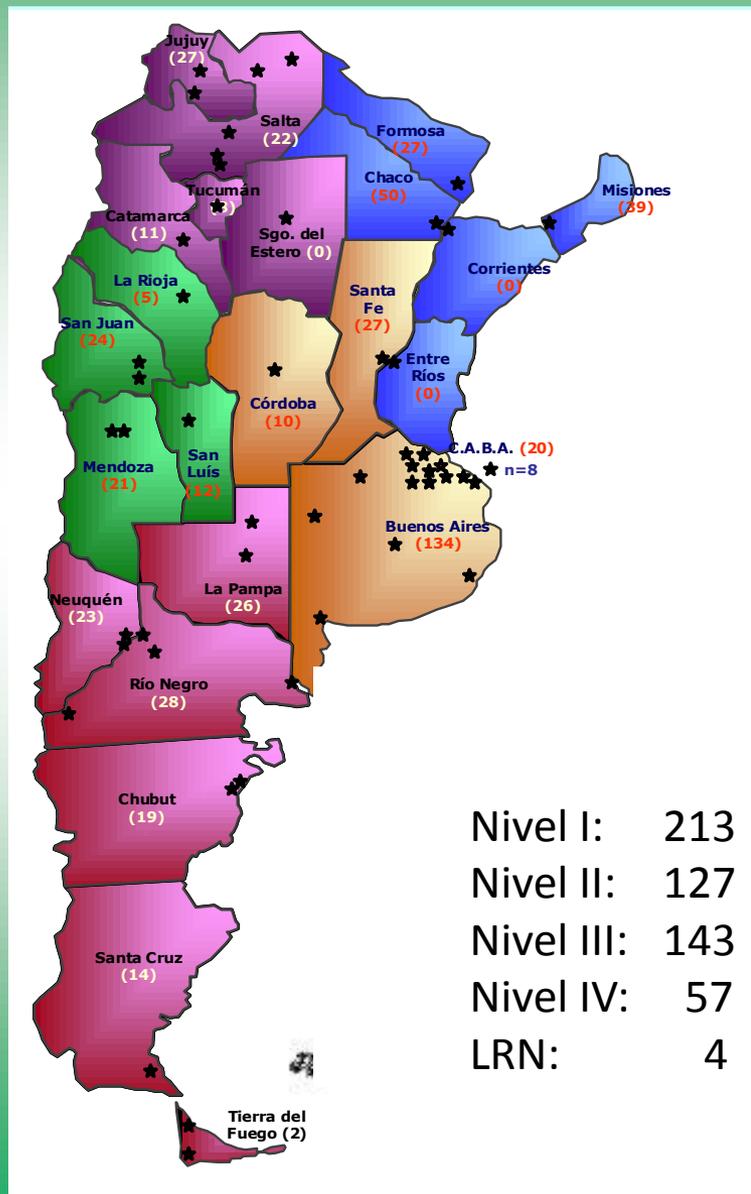
Misión

Fortalecer el sistema de vigilancia de las diarreas y de los patógenos de transmisión alimentaria a través de la organización de una Red Nacional, con componentes de las áreas humana y de alimentos, integrados a un sistema multidisciplinario y trabajando bajo normas de gestión de calidad reconocidas, de manera de obtener un diagnóstico microbiológico confiable, oportuno y reproducible para ser utilizado en el mejoramiento de la atención del paciente y en la prevención de brotes

Patógenos bajo vigilancia

- Escherichia coli* O157 y STEC no-O157
- Escherichia coli* diarreigénico
- Salmonella* spp.
- Shigella* spp.
- Vibrio cholerae* O1 y no-O1
- Listeria monocytogenes*
- Campylobacter* spp.
- Staphylococcus aureus*
- Bacillus cereus*
- Clostridium* spp.

Red de Diarreas Bacterianas Estructura



Actividades

- Estandarización metodológica
- Envío periódico de muestras y/o aislamientos
- Provisión de reactivos específicos
- Diagnóstico referencial
- Comunicación de resultados a nivel local, regional y nacional
- Consolidación anual de datos
- Sistema de alerta para la comunicación de situaciones inusuales o emergentes
- Informatización de la información mediante software específico: SIVILA
- Implementación de Programas de Evaluación Externa de la Calidad
- Capacitación continua (cursos, talleres, pasantías)
- Difusión de Manuales de Procedimientos
- Diseño y ejecución de proyectos de investigación
- Interacción con otras Redes

Provisión antisueros

Salmonella

- Polivalentes OSA y OSB
- Monovalentes somáticos
- Polivalentes y monovalentes flagelares
- De inversión de fase

Shigella

- Polivalentes de *S. flexneri* y *S. sonnei*
- Monovalentes de *S. flexneri* 1; 2; 3
- AA479 para *Shigella* atípica

Escherichia coli

- O157

Vibrio cholerae

- Polivalente O1
- Monovalentes Inaba, Ogawa, O139

Provisión antisueros

- Periodicidad: semestral
- Modalidad: centralizada, a través del Coordinador Jurisdiccional (CJ)
- Pedido dirigido al Servicio Antígenos y Antisueros del INPB
- (sbruno@anlis.gov.ar) con copia a los RN (mrivas@anlis.gov.ar y mrvinas@anlis.gov.ar)
- Consolidación de la información: Coprocultivos realizados, % positividad, resultados de serotipificación, enviados semestralmente (antes del 15 de julio para el 1º semestre y del 15 de enero para el 2º semestre) por el CJ a los RN, con copia al Servicio Antígenos y Antisueros

Envío de aislamientos

El RTJ enviará aislamientos al RN de acuerdo a los siguientes criterios:

- STEC O157 y no-O157: **TODOS**
- *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp.: **TODOS**
- *Campylobacter* spp.: **TODOS**
- *Staphylococcus aureus* asociados a brotes: **TODOS**
- *Vibrio cholerae* O1 y no-O1: **TODOS**
- *Salmonella*:
 - Serotificados: 20% por mes (Información consolidada del 80% restante)
 - *Salmonella* spp.: **TODOS**
 - Asociados a brotes: **TODOS**
- *Shigella*:
 - *Shigella flexneri* 1, 2, 3, AA479: Aislamientos confirmados lunes, martes y miércoles de la 1^a semana de cada mes
 - *Shigella flexneri* 4, 5, 6: **TODOS**
 - *Shigella sonnei*: Aislamientos confirmados lunes, martes y miércoles de la 3^a semana de cada mes
 - Otros: **TODOS**
 - Brotes: **TODOS**

PulseNet

Red Internacional de Subtipificación Molecular para la Vigilancia de ETA

Objetivo: Reducir las Enfermedades de Transmisión Alimentaria promoviendo la utilización de Técnicas Moleculares para el diagnóstico y tipificación de patógenos a fin de fortalecer la vigilancia y el sistema de respuesta

Red Internacional

USA; Canadá; Europa; Asia Pacífico; América Latina y Caribe; y Medio Oriente

- Protocolos de laboratorio y de análisis estandarizados
- Programa de Control de Calidad
- Capacitación
- Bases de Datos Regionales

Rol del INEI: Centro de Referencia Regional para América del Sur

Co-coordinación de la Red Regional junto a OPS. Participación en programa de evaluación externa de calidad, actividades de capacitación, recolección y análisis de datos

Conclusiones Finales

- ❑ El diagnóstico microbiológico a nivel de género/especie de *Salmonella* spp., *Shigella* spp. y *Campylobacter* spp., entre otros, se puede realizar por pruebas bioquímicas, y seroagrupamiento y/o serotipificación
- ❑ El diagnóstico de *E. coli* diarreigénico no puede realizarse por pruebas bioquímicas convencionales ya que presentan propiedades indistinguibles de cepas de *E. coli* comensales
- ❑ Es necesario contar con un procedimiento diagnóstico específico dirigido a la detección de los factores de virulencia de DEC por técnicas moleculares
- ❑ Esto permitirá mejorar el diagnóstico de las diarreas bacterianas, actualmente con 20% de positividad, de manera de asegurar el correcto manejo clínico del paciente y fortalecer la vigilancia



GRACIAS POR SU ATENCIÓN