



EL CÓLERA

En Tiempos De Crisis...

**XXIX SEMINARIO INTERNACIONAL DE
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

Alba Guiu Martínez
Servicio de Microbiología
Hospital de la Princesa
23.10.2012

...de crisis medioambiental



El cólera en tiempos de crisis medioambiental

- **ENTENDER** implicación clínica *V. cholerae*. Enfermedad cólera
- **CONOCER** *V. cholerae* desde el punto de vista biológico/ecológico: Objetivo principal

- Historia del cólera. Pandemias y tipos de *V. cholerae*.
- Cuadro clínico.

- Mecanismos de patogenicidad. Interacción con el hombre.

- Mecanismos de interacción y supervivencia de *V. cholerae* en su hábitat natural.
- Ciclo de transmisión del cólera. Mecanismos implicados.

Características microbiológicas

V. cholerae

- Bacilo G(-) curvado “forma de coma”
- Móvil → flagelo polar
- Oxidasa positiva
- Anaerobio facultativo
- Hábitat acuático. Requieren Na. No halófilo
- Familia Vibrionaceae → 12 especies patógenas para el hombre



□ *V. parahaemolyticus* →

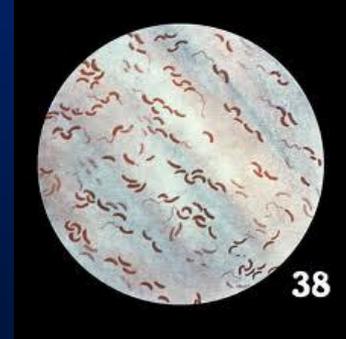
- Principal agente causal de infecciones intestinales bacterianas en Asia
- Asociado al consumo de pescado crudo y marisco
- Japón: 50-70% de los casos de diarrea

□ *V. vulnificus*

- Estuarios, aguas marinas
- Diarrea
- EEUU: Septicemia e infecciones de heridas

□ *V. cholerae*

V. cholerae



Descubrimiento: Pacini

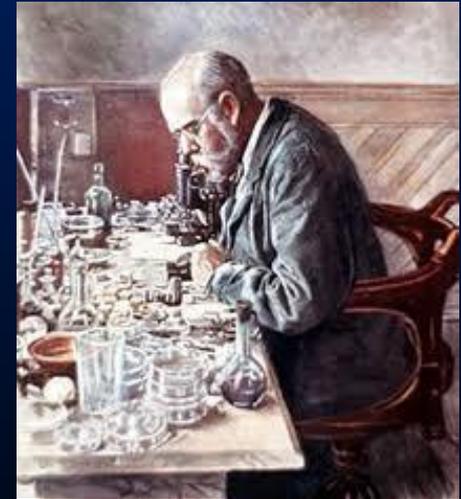
- Cólera causado por un exceso de producción de bilis (*cholera* en griego: bilis)
- Pandemia SXIX :Italia
- **Filippo Pacini**
 - Médico forense: autopsias pacientes fallecidos por cólera → análisis histológico mucosa intestinal → bacilos en forma de coma que llamó **Vibrio** (1854)
 - **Primero en identificar el agente causal cólera**
 - Más conocido por sus estudios sobre mecanorreceptores (corpúsculos de Pacini)
- SU DESCUBRIMIENTO CÓLERA FUE IGNORADO POR LA COMUNIDAD CIENTÍFICA HASTA 30 años más tarde



V. cholerae

Descubrimiento: R. Koch

- Bacilo tuberculosis 1882
- 1884 → REDESCUBRIMIENTO Bacilo cólera
- Observación microscópica bacilos
- Consiguió aislarlos y cultivarlos
- NO cumplió su tercer postulado:
 - No logró reproducir la infección en animales
 - Finalmente causó la enfermedad en voluntarios sanos por autoinfección → credibilidad a sus postulados
 - **VIBRIO CHOLERAЕ AGENTE CAUSAL DEL CÓLERA**



Cólera

- Enfermedad GI de inicio brusco y de curso agudo
- P. incubación: 1-2 días (h)
 - El breve periodo de incubación acrecienta el carácter potencialmente explosivo de los brotes epidémicos
- Vía oral
- Superar la barrera gástrica
 - Sensible acidez gástrica → Dosis infectiva alta
 - Aclorhidria gástrica aumenta riesgo
- Se establece en el epitelio intestinal
- Cuadro clínico → diferentes grados de manifestación:
 - infecciones asintomáticas
 - diarrea no complicada
 - enfermedad grave



Cólera



DIARREA:

- MUY profusa
- MUY acuosa
- no sanguinolenta
- aspecto agua de arroz

DEPOSICIONES FRECUENTES

(15 min): 10L
heces
acuosas en 1
día

DESHIDRATACIÓN SEVERA

Aunque la diarrea es un síntoma común provocado por muchos otros enteropatógeno, **SOLO EL CÓLERA** es capaz de provocar una **DESHIDRATACIÓN TAN GRANDE** en un período **TAN CORTO** de tiempo



DIARREA ACUOSA OTRA SINTOMATOLOGÍA ASOCIADA



Cólera: Incidencia

- 3 millones y 5 millones de casos / año
- 100 000 y 120 000 defunciones
- Mayor riesgo: personas con inmunidad reducida, niños desnutridos y enfermos patología previa
- Parte población zonas con alta incidencia cólera adquieren Ac al llegar a la edad adulta
- Vacunas disponibles → inmunizar población:
 - Vacuna clásica iv: En desuso. Ofrecen tan solo protección 50% y corta duración (3-6 meses) y efectos adversos
 - Vacunas orales
 - Vibrios inactivados serogrupo O1 + sub B toxina
 - Inocuas, mayor grado protección durante varios meses
 - Anticuerpos séricos (IgG)
 - Anticuerpos locales a nivel de la mucosa intestinal (IgA)



Cólera: Incidencia

- Endémico, epidémico y pandémico
- 7 Pandemias (1800- actualidad)
- Instrumento útil para estudios pandemias y epidemiológicos:
 - Clasificación *V. cholerae*: Basada en el tipo de AgO LPS
 - 3 serogrupos:

- ***V. cholerae O1***

- 2 biotipos:

- Clásico

- El Tor

- 3 serovares: Inhaba, Hikojima, Ogawa

- ***V. cholerae O139***

- ***V. cholerae no O1-no O139***

6 pandemias
sucesivas

V. cholerae 01

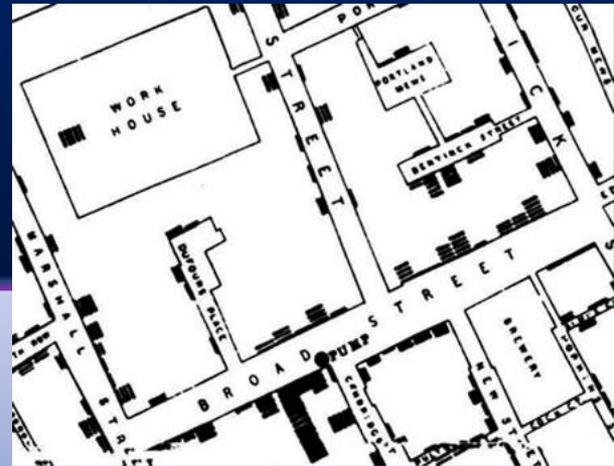
Biotipo Clásico

- **6 PANDEMIAS (S XIX)**
- Reservorio original en el delta del Ganges (India)
- Cólera se propagó por todo el mundo
- Fallecimiento millones de personas en todos los continentes
- Incluida España: los dos últimos brotes se sitúan en 1971 y 1979.

• **3ª PANDEMIA**

- 1848 Inglaterra: Brote de cólera más violento historia de Londres
- Alarma: Fallecimiento de 700 personas en menos de una semana distrito del Soho
- John Snow
 - Médico Inglés
 - “Padre de la epidemiología moderna y Salud Pública”
 - Contribución al descubrimiento mecanismo transmisión cólera

MECANISMO TRANSMISIÓN CÓLERA



John Snow:

- Mapa de Londres → marcando cada una las defunciones producidas por el cólera → determinación geográfica de la epidemia
- Observó que la mayoría de casos se habían producido en los alrededores de Broad Street
- Nexo: el mismo pozo abastecimiento de agua bebida
 - Hipótesis: ¿Cólera transmitido por el agua?
 - Se confirmó: contaminación del pozo con aguas fecales

Clasificación serogrupos:

- *V. cholerae O1*

- 2 biotipos:

- Clásico

- El Tor

- 3 serovares: Inhaba, Hikojima, Ogawa

7ª PANDEMIA

- *V. cholerae O139*

- *V. cholerae no O1-no O139*

V. cholerae 01

Biotipo El Tor



- 7ª pandemia. Desplazó al biotipo Clásico
- Emergió en 1961 Indonesia → India → Asia
- **1991 Salto a Sudamérica**
 - Perú (Puerto de Chancay): 1º casos
 - En UN SOLO DÍA : el brote se había desplazado 400 Km
 - **Dispersión territorial TAN grande y en TAN poco tiempo → sugiere otro mecanismo implicado además del foco primario de agua contaminada**

• ¿EXPLICACIÓN?

Clasificación serogrupos:

- *V. cholerae O1*

- 2 biotipos:

- Clásico

- El Tor

- 3 serovares: Inhaba, Hikojima, Ogawa

Epidemia
cólera Haití

- *V. cholerae O139*

- *V. cholerae no O1-no O139*

V. cholerae 01

Ogawa: Epidemia cólera Haití



Tras terremoto devastador 2010:

- Saneamiento ambiental y la infraestructura sanitaria: seriamente afectados
- Llegada grupos refugiados sin hogar a causa del terremoto a campamentos deficientes y superpoblados
- Propició las condiciones para la aparición y transmisión del cólera
- Reaparece tras 100 años

V. cholerae O139

- Nuevo serogrupo (1992 Bangladesh)
- Transferencia de genes de una bacteria desconocida a El Tor nuevo AgO (nuevo LPS O139)
- Ciclos de epidemias intercalados con El Tor (90s)
- Aumento propagación (2000): India, Asia.
¿Comienzo octava pandemia?

V. cholerae no O1-no O139

- Fenotípicamente similar pero no aglutina con antisueros O1 ni O139
- No relacionado con pandemias.
- Cuadros más leve
- Infección extraintestinal

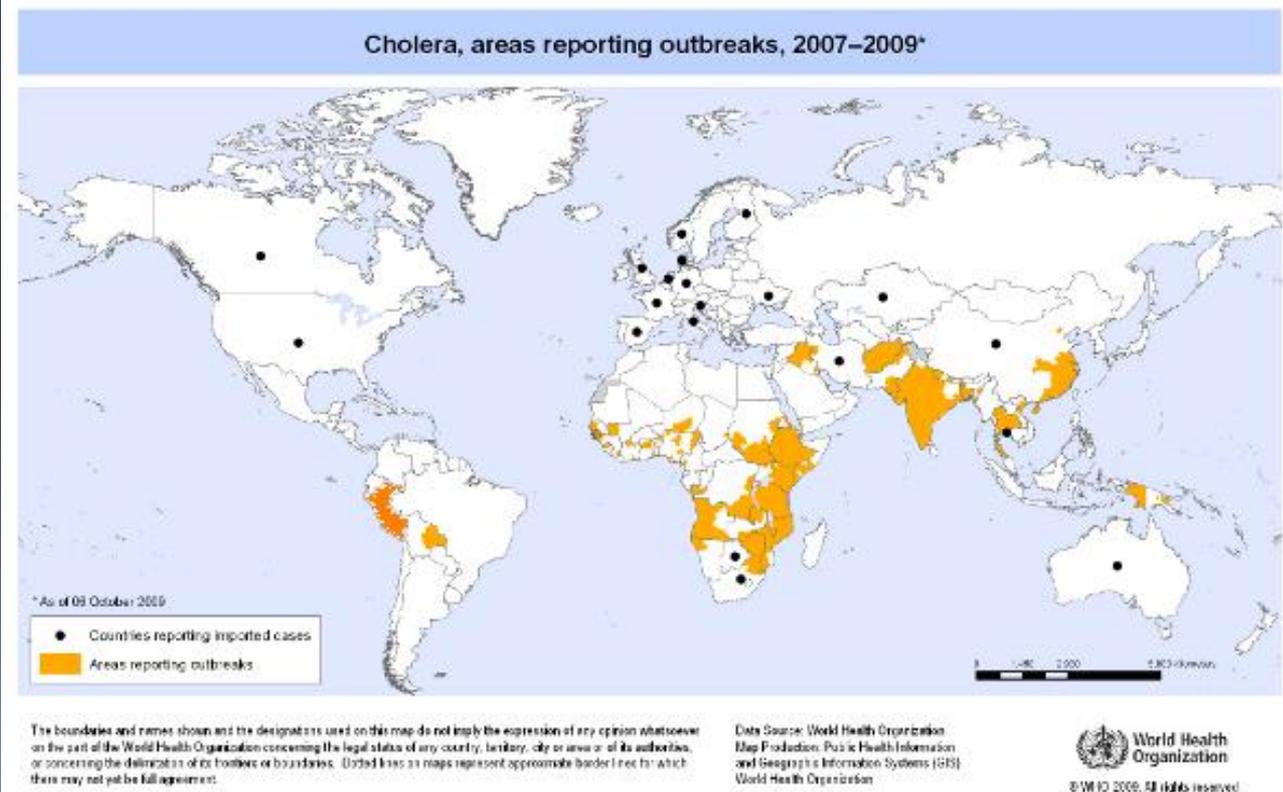
Cólera situación actual

Zonas endémicas:

- Continente Africano
- América del Sur
- Bangladesh, India, Indonesia



Áreas endémicas que notificaron brotes
Continentes con casos importados





EPIDEMIA DE CÓLERA EN SIERRA LEONA 2012

- Activa
- **V.cholerae O1 Ogawa**
- 20.000 casos, 280 mortales
- Cólera endémico en el país, cifras que no se veían desde el brote de 1970-1971
- Crisis humanitaria
- Condiciones sanitarias deficientes
- Falta de agua potable

Propagación



El cólera en tiempos de crisis medioambiental

- Historia del cólera
- Pandemias y serogrupos *V.cholerae*. Distribución mundial
- Cuadro clínico

□ Mecanismos de patogenicidad

- Transmisión al hombre
- Mecanismos de interacción y supervivencia de *V. cholerae* su hábitat natural
- Ciclo de transmisión del cólera. Mecanismos implicados

¿Mecanismo patogenicidad?

TOXINA
COLÉRICA



Toxina colérica



- 1959 Sambhu Nath
- Filtrados de cultivos *V. cholerae* libres de bacterias : eran enterotóxicos y desarrollaban la enfermedad en modelos animales
- Trabajó también con *E. coli* descubriendo que la patogenicidad de algunas cepas eran similares a *V. cholerae*
→ **ECET** (homología toxina 87%)
- Trabajo similar *E. coli* con la toxina de *Shigella spp.* → **ECEH**

Toxina colérica

- Proteína oligomérica A B₅
- **Las subunidades B → RECEPTOR**
 - Gangliósido GM₁ membrana celular del epitelio ID
 - Crea un poro de entrada Sub A
- **La subunidad A → EFECTO TÓXICO**
 - Penetra en el enterocito
 - Activa al complejo enzimático AC

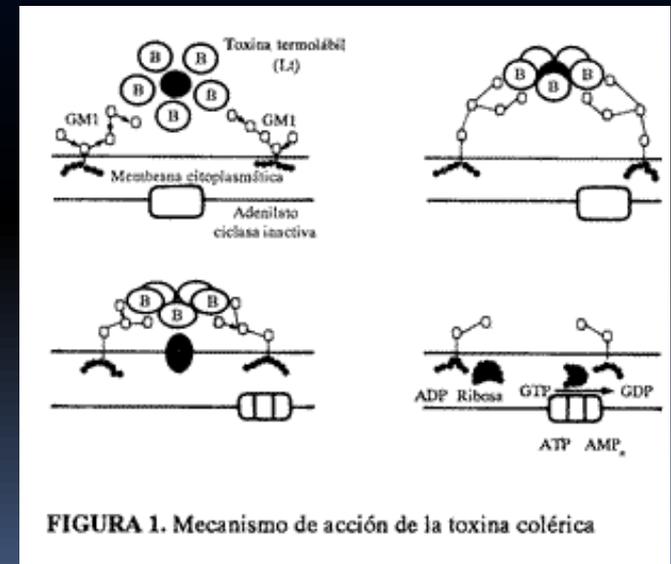
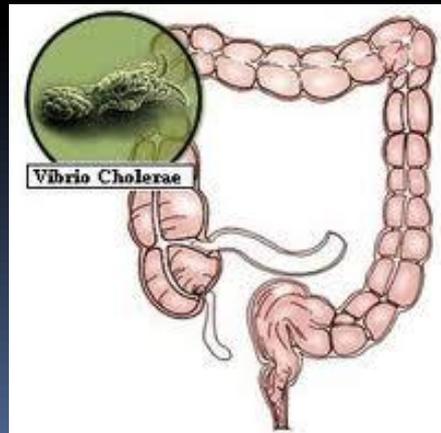
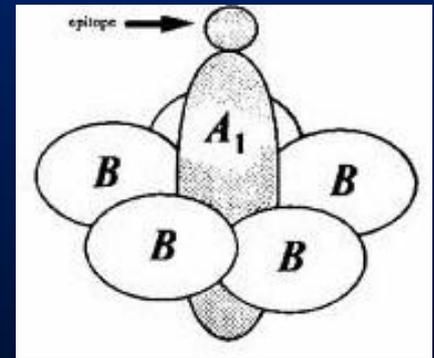


FIGURA 1. Mecanismo de acción de la toxina colérica

Toxina colérica: Activa complejo AC

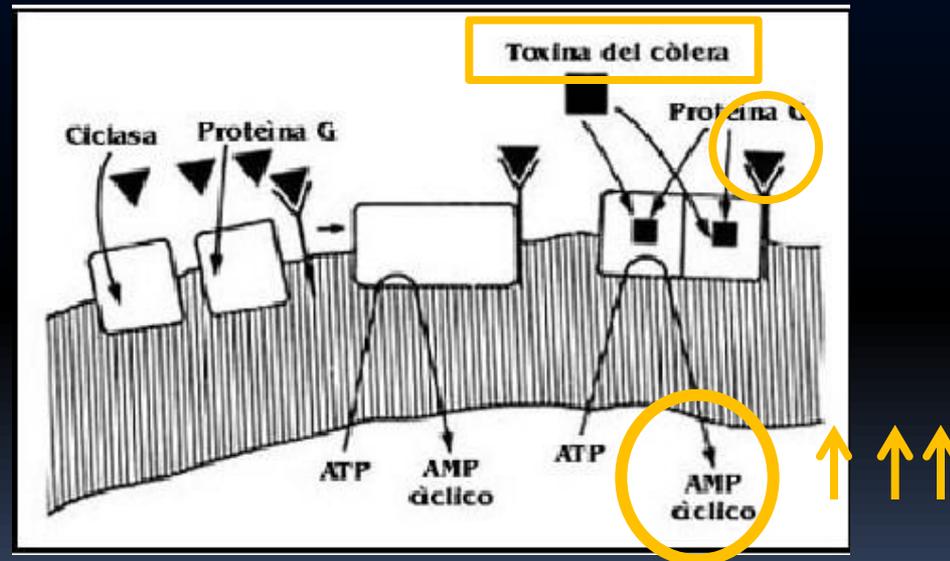
Adenilato Ciclasa

- ATP → AMPc
- Regula flujo iones
- AC configuración activa: requiere **GTP**

Proteína G

- Regula la activación AC
- Activa GTPasa: GTP → **GDP**
- Frena la síntesis AMPc (GDP: AC configuración inactiva)

**Toxina colérica:
bloquea prot G**



TOXINA COLÉRICA → BLOQUEA PROT G → GTP → ACTIVACIÓN CONTÍNUA AC → SÍNTESIS DESCOTROLADA AMPc

Toxina colérica: mecanismo de acción:

- ↑ AMPc → Alteraciones salida electrolitos
 - activa CFTR: salida de Cl⁻
 - bloqueo entrada Na⁺

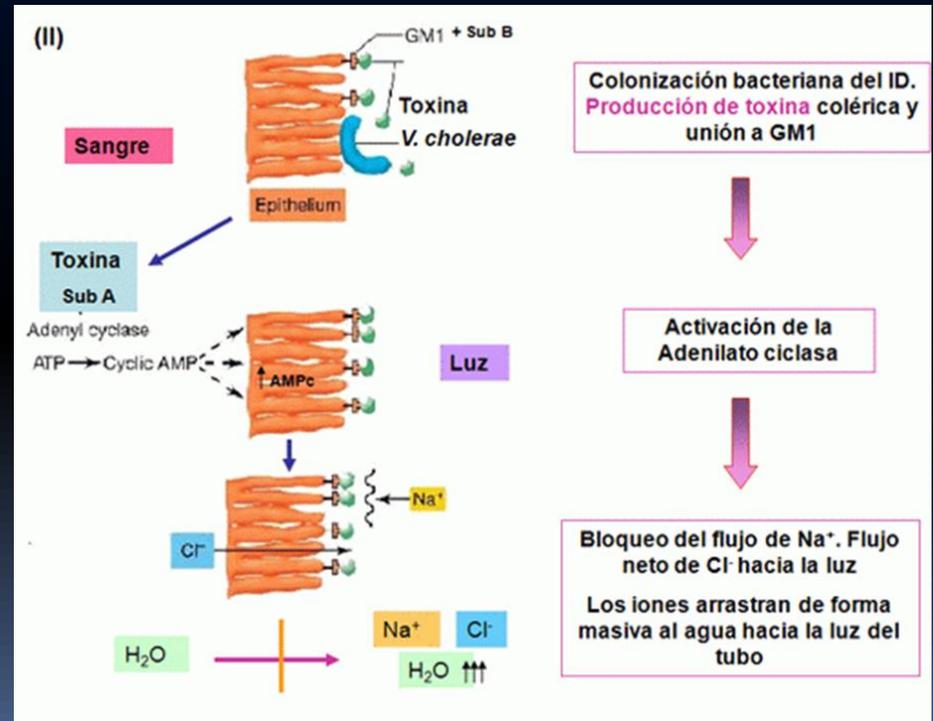
NaCl lumen → salida H₂O

TOXINA: Activación
continua de AC

Salida masiva de H₂O

- epitelio intestinal
- capilares
- tejido subyacente

DESHIDRATACIÓN
SEVERA



Toxina colérica. Cuadro clínico

Debido a la producción descontrolada de toxina el epitelio actúa como una bomba sacando agua

- **DIARREA ACUOSA MUY PROFUSA**
 - Bacteria puede ser eliminada al exterior
 - Toxina sigue actuando
- **DESHIDRATACIÓN SEVERA**
- **SHOCK HIPOVOLÉMICO**

(caída tensión , fallo multiorgánico)



TRATAMIENTO:

Prioridad: **REHIDRATACIÓN DEL PACIENTE**

Reponer electrolitos y agua perdidos por la diarrea

Sales de rehidratación oral después de cada deposición o cada 30'

Casos graves: iv

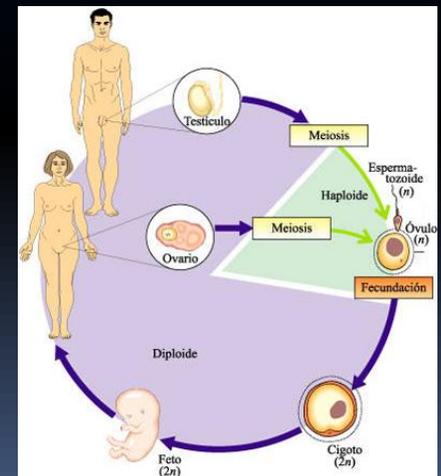
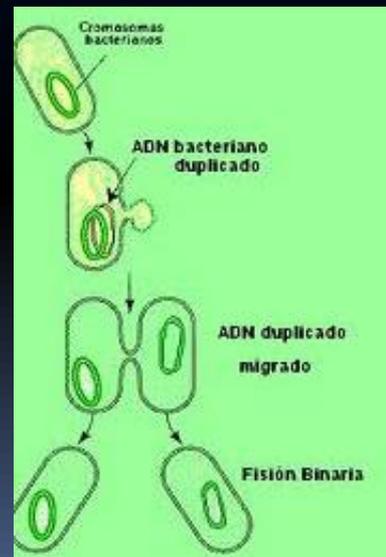
Antibióticos: Doxiciclina, Azitromicina, Ciprofloxacino

- Vistos los efectos tan graves de la Toxina colérica...

- ¿El mecanismo de acción de la toxina es rentable para *V.cholerae* punto de vista biológico?

- Microorganismos, animales, seres humanos
- Seres vivos → prioridad ciclo vital: supervivencia y transmisión

■ ¿*V.cholerae* no?



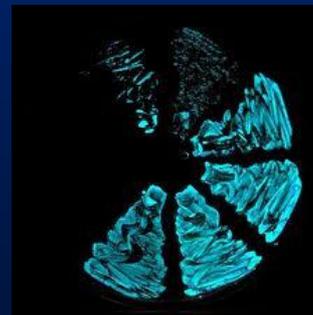
¿El mecanismo de acción de la toxina es rentable para *V.cholerae*?

- Diarrea tan potente, contracciones intestinales que arrastra a la propia bacteria al exterior → **ELIMINACIÓN BACTERIA**
- Diarrea → Pérdida 10 litros agua/ día → deshidratación paciente → **MUERTE en pocas horas DE SU HOSPEDADOR**

DESDE EL PUNTO DE VISTA BIOLÓGICO NO
ES RENTABLE. CORTA SU CICLO DE
TRANSMISIÓN
¿POR QUÉ LO HACE?

¿POR QUÉ LO HACE?

V. fischeri



- MODELO para entender el mecanismo de patogenicidad de *V. cholerae*: Producción descontrolada de la TOXINA
- Produce **bioluminiscencia**
- Mantiene una **asociación simbiótica** con *Euprymna scolopes* (*sepia marina*)
 - Vibrio: obtiene alimento y protección
 - Sepia nocturna: obtiene producción de bioluminiscencia (depredador nocturno)

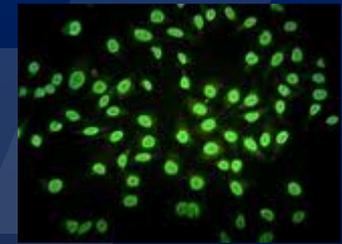
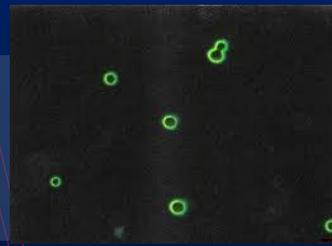


BIOLUMINISCENCIA

- Muchos organismos producen luz
- Operón lux → **LUCIFERASA**
- Cataliza reacciones de OXIDACIÓN generando compuestos inestables que emiten LUZ
- Mecanismo costoso
 - Gran consumo O_2
 - Puede competir con la respiración
- Necesidad de un mecanismo de regulación producción de luz solo en casos necesarios

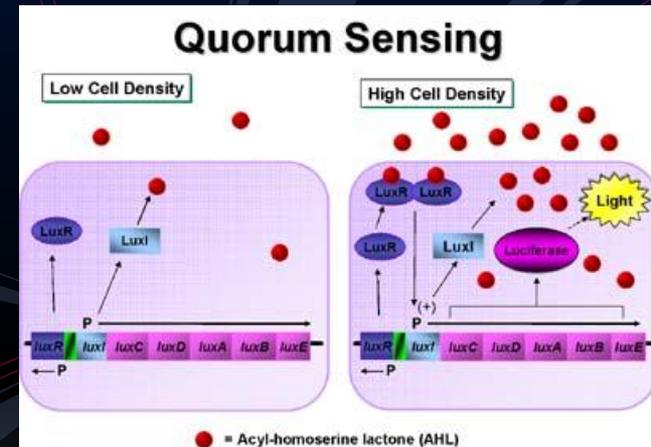


BIOLUMINISCENCIA



- A una sola bacteria no le compensa producir luz (no es perceptible)
- ***V. fischeri***: Solo tiene sentido cuando hay alta densidad de bacterias:
 - Regulación: **Autoinductor** → molécula sintetizada *V. fischeri* implicada transcripción genes luciferasa dependiendo de la **densidad celular**:

- Bacterias → AI → activa síntesis luciferasa → LUZ



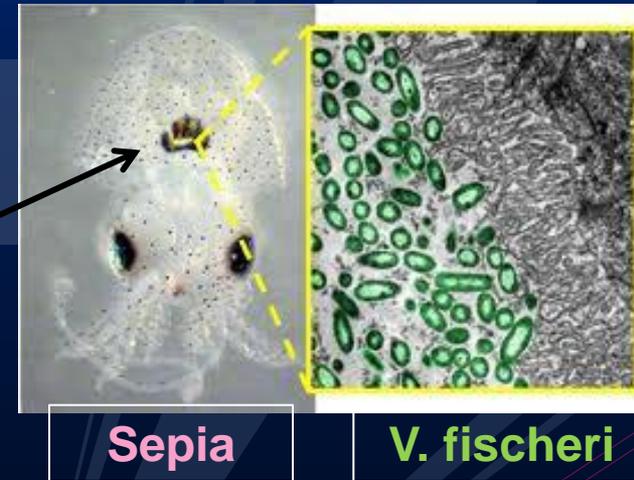
Sistema de regulación dependiente de la densidad celular mediante QS.
Primer mecanismo de QS bacteriano descrito.

Producción de bioluminiscencia: ventaja para *E. scolopes*

V. fischeri:

Ventajas:

- Protección: se aloja interior órganos luminosos sepia colonizados selectivamente por *V. fischeri*
- Obtención alimento
 - **Toxina → AMPc → alteración flujo electrolitos → salida componetes celulares → sustento**
 - **Toxina *V. fischeri* similar a la toxina colérica**



Sepia

V. fischeri

V. fischeri produce toxina para obtener sustancias de alimento, NO COMO FACTOR DE VIRULENCIA

- Producción de la toxina → PROCESO REGULADO

Regulación toxina *V. fischeri*:

SEPIA

- Inhibidor: bloquea producción de toxina

- Control muy estricto del nivel de población *V. fischeri*:

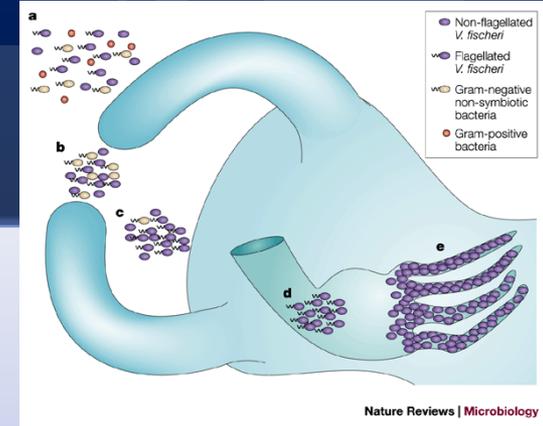
- AL FINAL DE LA NOCHE expulsión del 90% bacterias del órgano luminoso (sifones)

- Evita hiperpoblación *Vibrio* e hiperproducción toxina

- A LO LARGO DEL DÍA: colonización por nuevos *V. fischeri* para que cuando llegue la noche ↑bact y produzcan luz

BIOLUMINISCENCIA SOLO POR LA NOCHE (sepia nocturna) y dependiente de la DENSIDAD CELULAR

- La REGULACIÓN del proceso evita que la situación acabe en un sistema de patogenicidad



RELACIÓN *V. fischeri* y *V. cholerae*

- TOXINA SIMILAR
- CONSECUENCIA DIFERENTE:
 - ***V. fischeri*: ASOCIACIÓN BENIGNA. Simbiosis**
 - Resultado positivo para hospedador (Luz) y bacteria (Alimento: Toxina)
 - Situación de equilibrio → Producción **REGULADA** de la toxina
 - ***V. cholerae*: producción toxina → ASOCIACIÓN PATÓGENA**
 - Resultado perjudicial para hospedador y bacteria

- Hiperproducción toxina colérica : PROCESO NO REGULADO

- (= *V. fischeri*) Toxina no está destinada para deshidratar las células, sino para obtener alimento en su **HÁBITAT NATURAL: MEDIO ACUÁTICO**

CÓLERA:

- Transmisión de *V. cholerae* al hombre
- *V. cholerae* va a salir de su medio habitual
- Error de hospedador
- Error de intento de colonización
- No va a estar adaptado a nuevo hospedador
- No existen mecanismos de regulación producción toxina → hiperproducción descontrolada → trae como consecuencia (no buscada) la situación catastrófica de la enfermedad: CÓLERA



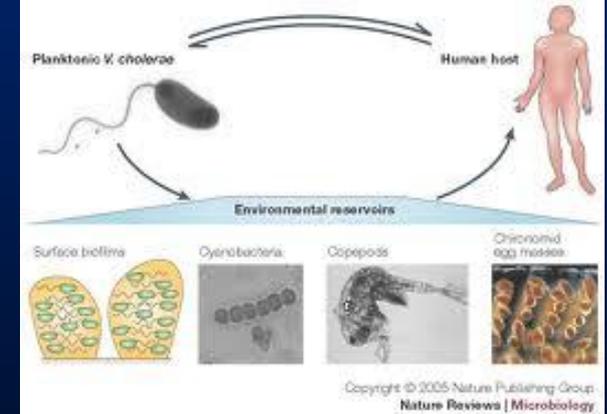
El cólera en tiempos de crisis medioambiental

- Historia del cólera
- Pandemias y serogrupos *V.cholerae*. Distribución mundial
- Cuadro clínico
- Mecanismos de patogenicidad

- **Transmisión al hombre**
- **Mecanismos de interacción y supervivencia de *V. cholerae* su hábitat natural**
- **Ciclo de transmisión del cólera. Mecanismos implicados**

Transmisión al hombre

- Reservorio *V. cholerae*:
 - MEDIO ACUÁTICO
 - *V. cholerae* miembro autóctono de ecosistemas acuáticos: estuarios y pantanos costeros en zonas subtropicales y subecuatoriales.
 - Coloniza ecosistemas **agua dulce**
- Fecal – oral
 - Alimentos contaminados (moluscos, marisco...) o manipulados de manera no higiénica. Contaminación fecal
 - **AGUA CONTAMINADA**





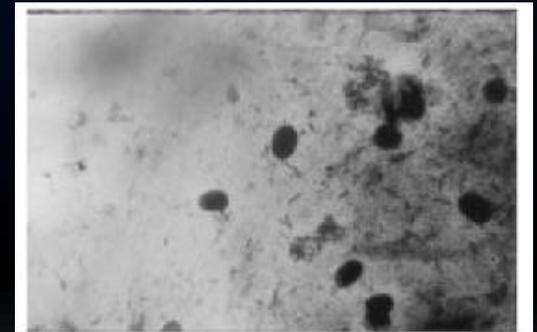


El agua como reservorio

V. cholerae puede vivir en el medio acuático en varias fases:

- **1. Fase VNC. Formas viables no cultivables**

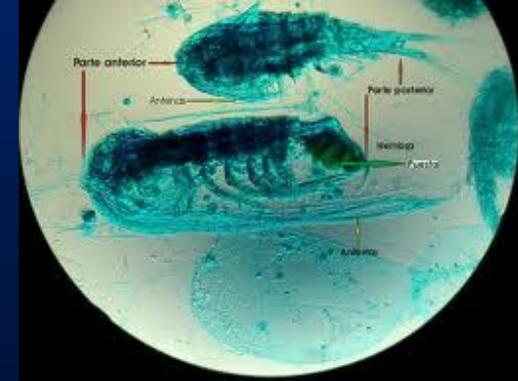
- Formas cocoides, pérdida flagelo
- Mttto funciones metabólicas , estado latente
- Persiste largos períodos de tiempo condiciones desfavorables, estrés ambiental
- Períodos interepidémicos



- **2. Vida libre**

- Poco habitual
- Bacterias acuáticas no suelen encontrarse en vida libre (baja supervivencia) sino que suelen estar asociadas a todo tipo de superficies marinas formando **biofilms**

El agua como reservorio



3. Asociado al plancton (biofilms)

- Copépodos marinos
- Adhesión *V. cholerae* al plancton → **favorece su supervivencia:**
 - Metaboliza la quitina del exoesqueleto (nutrientes)
 - Protección física
 - Protección compuestos tóxicos presentes en el agua y frente a variaciones estacionales (salinidad, temperatura...)
- **Facilita transporte:**
 - Asociado a blooms, afloramientos
 - Favorece la transmisión de *Vibrio cholerae*



La formación de biofilms con el plancton es un punto clave del ciclo biológico de *V. cholerae*: actúa como reservorio

Condiciones favorables para desarrollo *V. cholerae* en el medio acuático:

- Factores bióticos:
 - Asociación con el zooplancton
- Factores abióticos:
 - Niveles moderados de salinidad
 - Alto contenido en nutrientes
 - Tª cálidas
 - ph neutro-alcalino
(sensible a la acidez)

Alta
proliferación
de
V. cholerae

La asociación de *V. cholera* con el zooplancton es un factor clave para descifrar las epidemias de cólera

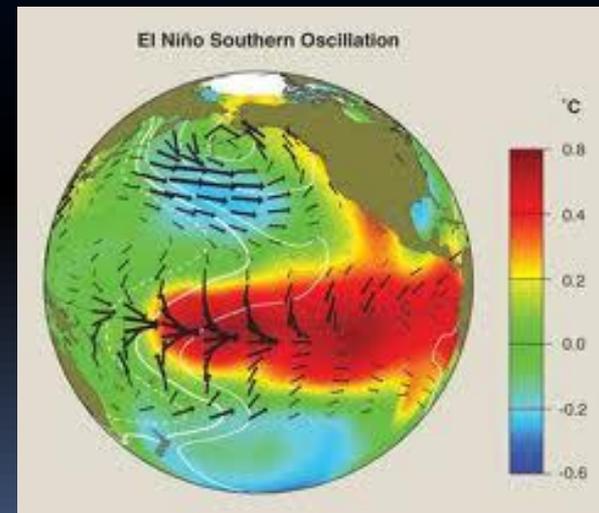


Importancia de identificar los ambientes acuáticos o fenómenos cuyas condiciones ecológicas permitan la supervivencia de *V. cholerae*

El Niño

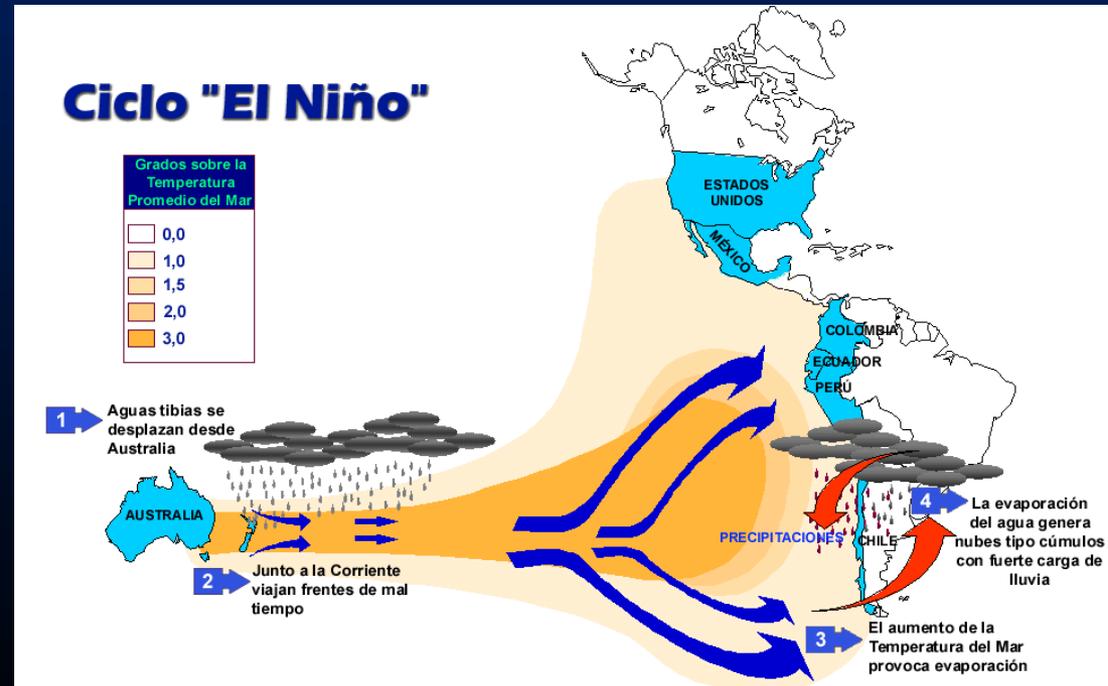


- Fenómeno climático que consiste en cambios en los patrones de movimientos de las corrientes marinas Pacífico
- Implicado en la dinámica de transmisión del Cólera



El Niño

Gigantesca masa de agua CÁLIDA del Pacífico se desplaza hacia el este y llega a las costas de Sudamérica



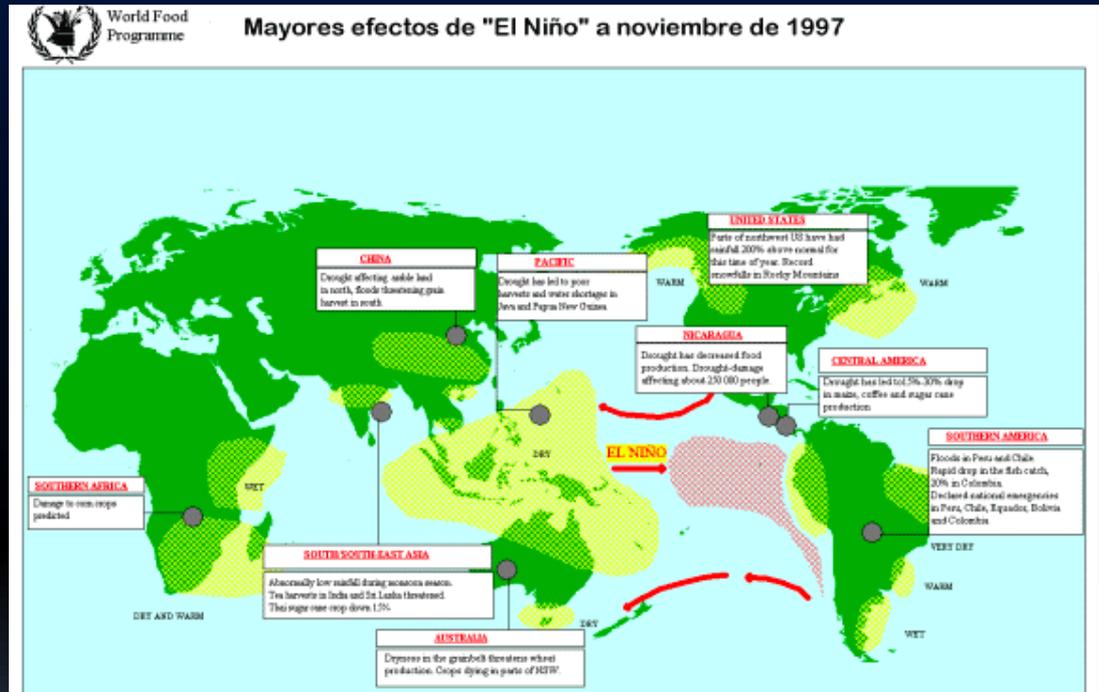
- El aumento T^a del mar provoca la evaporación del agua → generando nubes → potentes frentes tormentosos
- Produce lluvias torrenciales que causan fuertes inundaciones en las costas América del Sur
- Australia, Indonesia: sequía

El Niño y epidemias de cólera

Corriente del Niño
(desplazamiento masa
de agua)

Desplazamiento
zooplancton,
nutrientes y aumento
 T_a

Condiciones
óptimas
multiplicación de
V.cholerae



El Niño y epidemias de cólera

CORRIENTE DEL NIÑO: desplazamiento *V. cholerae* siguiendo su trayectoria: Australia/Indonesia → Sudamérica

Expansión del cólera VII PANDEMIA tuvo su inicio en Indonesia, llegando Sudamérica y diseminándose de forma rápida a 20 países

Coincidencia de ambos fenómenos en el tiempo y espacio.

LLEGADA DEL CÓLERA A PERÚ EN 1991 ASOCIADA AL FENÓMENO DEL NIÑO

Corriente del Niño: puerta de entrada del cólera en el continente durante la VII pandemia

Coincidente en fechas otros eventos posteriores del Niño y otras epidemias de cólera

V. cholerae 01

Biotipo El Tor

- 7ª pandemia. Desplazó al biotipo Clásico
- Emergió en 1961 Indonesia → India → Asia

Llegada cólera a Sudamérica
y su dispersión tan rápida por
toda la costa solo un día:
EL NIÑO

91 Salto a Sudamérica

Perú (Puerto de Chancay): 1º casos

En UN SOLO DÍA: el brote se había
desplazado 400 Km

- Dispersión territorial TAN grande y en TAN poco tiempo → sugiere otro mecanismo implicado además del foco primario de agua contaminada

• ¿EXPLICACIÓN?





- Historia del cólera → fuerte asociación con el mar
- Grandes pandemias avanzan siguiendo las líneas de costa
- Corrientes oceánicas transportan el plancton a lo largo de áreas costeras muy alejadas. **DISEMINACIÓN TERRITORIAL CÓLERA**
- Fenómenos climatológico (**corriente del Niño**) contribuyen:
 - diseminación territorial
 - proliferación de *V. cholerae* → riesgo de epidemias /pandemias cólera (VII)

CÓLERA

(Crisis medioambiental)



- Excelente ejemplo de cómo los factores biológicos/ecológicos permiten una mejor comprensión de la enfermedad
 - Origen → error de hospedador (fuera de su hábitat)
 - Transmisión
 - Epidemiología
- Medio acuático: Reservorio.
Fenómenos climatológicos: Proliferación *V. cholerae* → riesgo epidemias
- **Aplicable en la Prevención de la enfermedad**

Barreras de control ambiental

- Control ciclo ecológico *V. cholerae*
- Alerta fenómenos climatológicos implicados en la transmisión

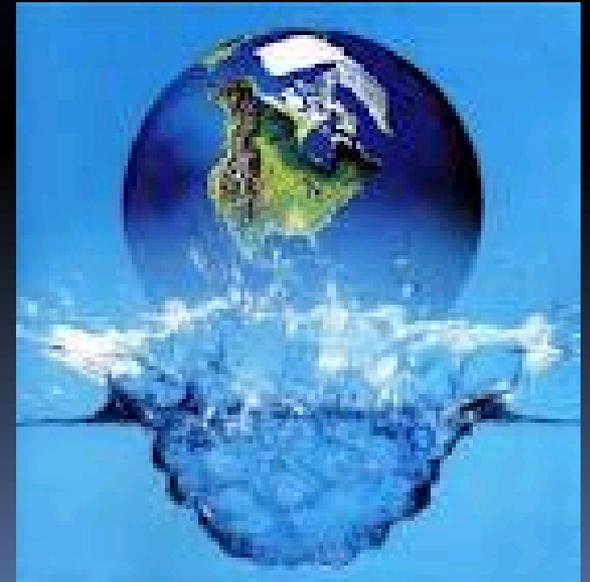
BLOQUEAR CICLO TRANSMISIÓN CÓLERA

- Medidas higiénico-sanitarias → imp prevención de la enfermedad
 - Control condiciones de salubridad
 - Educación sanitaria de la población
 - Gestión sanitaria de las excretas. Red de alcantarillado adecuada
 - **ACCESO AGUA POTABLE**

ACCESO AGUA POTABLE

Solamente el 3% del agua del mundo es potable

Solamente el 1% del agua potable es accesible





- Suministro de agua potable
- **Vigilancia ciclo ecológico de *V.cholerae***

**BARRERAS MÁS EFECTIVAS DE
CONTROL DEL CÓLERA**



MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN

Valle del Lago (Asturias)