

5

QUINQUENNI DE SALUT PÚBLICA

Guia per a la prevenció i el control de les toxifiències alimentàries



5

QUADERNS DE SALUT PÚBLICA

**Guia
per a la prevenció
i el control
de les toxiinfeccions
alimentàries**



Generalitat de Catalunya
**Departament
de Salut**

Biblioteca de Catalunya. Dades CIP:

Guia per a la prevenció i el control de les toxiinfeccions alimentàries. – 2a ed. – (Quaderns de salut pública ; 5)
Bibliografia
ISBN 84-393-7091-1
I. Domínguez i García, Àngela, dir. II. Prats, Guillem, dir. III. Teixidó i Canelles, Àngel, dir. IV. Barberà, Ester (Barberà Orús) V. Catalunya. Departament de Salut VI. Col·lecció: Quaderns de salut pública ; 5
1. Intoxicació alimentària – Prevenció
613.2-099:614.44

© Generalitat de Catalunya
Departament de Salut

Edita: Direcció General de Salut Pública
2a. edició: Barcelona, juliol de 2006
Tiratge: 8.000 exemplars
ISBN: 84-393-7091-1
Dipòsit legal: B-19.504-2006

Assessorament editorial: Pau Tutusaus (Responsable de Publicacions, Imatge i Difusió Corporativa del Departament de Salut)
Assessorament lingüístic: Rosa Chico
Disseny original: Ideograma, S.A.
Adaptació de la coberta i maquetació: Ortega i Palau, S.L.
Impressió: Gràfiques Cuscó, S.A.

Coordinació de l'edició

Àngela Domínguez

Guillem Prats

Àngel Teixidó

Autors

Ester Barberà

Rosa Bartolomé

Albert Bosch

Neus Cardeñosa

Laura Cabedo

Àngela Domínguez

M. Dolores Ferrer

Pere Godoy

Anna Martínez

Montserrat Masó

Mayli Lung

Isabel Méndez

M. Jesús Miguélez

Beatriz Mirelis

Montserrat Portús

Rosa Maria Pintó

Alba Prat

Guillem Prats

Lluís Picart

Mercedes de Simón

Àngel Teixidó

Núria Torner

Presentació

Les toxiinfeccions alimentàries constitueixen un problema de salut pública molt important als països desenvolupats que no disminueix malgrat l'adopció de mesures preventives en els diferents àmbits que intervenen en la seva aparició.

És probable que ara hi hagi més sensibilitat davant del problema i que, en conseqüència, tant els mateixos afectats com el personal sanitari que les diagnostica les comuniquin amb més freqüència que anys enrere.

Tanmateix, altres circumstàncies de la nostra societat com els nous estils de vida o les mateixes característiques de les persones, evidentment, també en propicien l'aparició. Menjar fora de casa per exigències laborals o per la incorporació de la dona al món del treball, recórrer al consum de menjars preparats, el comerç internacional d'aliments i el turisme internacional serien alguns dels factors relacionats amb l'estil de vida que poden comportar un risc superior que apareguin toxiinfeccions alimentàries.

L'increment del nombre de persones que tenen algun nivell d'immunodepressió a la nostra societat, sigui per l'edat avançada o perquè presenten alguna malaltia, o perquè estan sotmeses a tractaments que comporten una immunosupressió, també va associat a un risc més alt d'emmalaltir després de consumir aliments contaminats.

Les toxiinfeccions alimentàries s'han de considerar un problema de salut important en l'actualitat, i per controlar-lo cal que s'estableixin línies de col·laboració entre els professionals de tots aquells sectors que intervenen en les diferents fases de la cadena alimentària. Amb aquesta segona edició de la *Guia per a la prevenció i el control de les toxiinfeccions alimentàries* s'amplien i s'actualitzen els coneixements i les recomanacions que es recollien a la primera edició que el Departament de Sanitat i Seguretat va publicar l'any 1992. Vull agrair a tots els professionals del Departament de Salut, i especialment als experts d'altres institucions, el seu esforç i dedicació perquè aquesta obra, que espero i desitjo que sigui d'utilitat per a tots els professionals relacionats amb el problema de les toxiinfeccions a Catalunya, pugui veure la llum.

Antoni Plasència i Taradach

Director general de Salut Pública

ÍNDEX

1	Introducció	11
1.1	Toxiinfeccions alimentàries. Concepte i classificació	13
2	Epidemiologia de les toxiinfeccions alimentàries	19
2.1	Importància de les toxiinfeccions alimentàries en el món desenvolupat	19
2.2	Etiologia i factors que contribueixen a les toxiinfeccions alimentàries a Catalunya	24
3	Principals agents microbians de les toxiinfeccions alimentàries	35
3.1	Agents bacterians	35
3.1.1	<i>Salmonella</i>	35
3.1.2	<i>Campylobacter</i>	42
3.1.3	<i>Shigella</i>	46
3.1.4	<i>Escherichia coli</i>	50
3.1.5	<i>Yersinia enterocolitica</i>	63
3.1.6	<i>Listeria monocytogenes</i>	68
3.1.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	71
3.1.8	<i>Clostridium perfringens</i>	74
3.1.9	<i>Bacillus cereus</i>	78
3.1.10	<i>Clostridium botulinum</i>	80
3.1.11	<i>Vibrio cholerae</i>	83
3.1.12	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	89
3.1.13	<i>Aeromonas</i> i <i>Plesiomonas</i>	91
3.2	Virus	97
3.2.1	<i>Caliciviridae</i>	97
3.2.1.1	<i>Norovirus</i>	97
3.2.1.2	<i>Sapovirus</i>	101
3.2.2	Rotavirus	101
3.2.3	Astrovirus	104
3.2.4	Adenovirus	105
3.3	Protozous	107
3.3.1	<i>Giardia duodenalis</i>	107
3.3.2	<i>Dientamoeba fragilis</i>	109
3.3.3	<i>Entamoeba histolytica</i>	110
3.3.4	<i>Cryptosporidium</i>	112
3.3.5	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	114
3.3.6	<i>Isoospora belli</i>	116
3.3.7	Microsporidis	116
3.3.8	<i>Balantidium coli</i>	118

4	Intoxicacions alimentàries	131
4.1	Toxines marines	131
4.1.1	Biotoxines marines	131
4.1.2	Amines biogèniques. Intoxicació per histamina	135
4.2	Glutamat monosòdic	136
4.3	Micotoxines	137
4.4	Bolets tòxics	143
5	Els aliments com a vehicle de toxiinfeccions alimentàries	151
5.1	Càrrega microbiana dels aliments	151
5.2	Factors que afavoreixen la proliferació microbiana	152
5.2.1	Factors intrínsecs	153
5.2.2	Factors extrínsecs	154
5.3	Aliments vehiculadors d'organismes causants de toxiinfeccions alimentàries	155
5.4	Criteris microbiològics en la higiene dels aliments	157
6	Prevenició de les toxiinfeccions alimentàries	163
6.1	Condicions higièniques dels equipaments i les instal·lacions	164
6.2	Selecció de les matèries primeres	164
6.3	Emmagatzematge i conservació de les matèries primeres	165
6.4	Processos d'elaboració dels aliments	165
6.4.1	Manipulació d'aliments crus	165
6.4.2	Tractaments per elaborar i conservar els aliments	167
6.5	Conservació de menjars elaborats	168
6.6	Autocontrols	168
7	Manipulació d'aliments	171
7.1	Normes d'higiene personal per als manipuladors	173
7.2	Pràctiques higièniques de manipulació	173
7.3	Actitud davant del manipulador portador	175
8	Investigació d'un brot de toxiinfecció alimentària	181
8.1	Notificació i confirmació de la sospita de brot	182
8.1.1	Declaració de la sospita	182
8.1.2	Informació sobre els casos i les circumstàncies concurrents	183
8.1.3	Establir una definició de cas	184
8.1.4	Verificar l'existència del brot	185
8.2	Formulació d'una hipòtesi	185
8.3	Instauració de mesures de control	186

8.4	Planificació i execució de la investigació	186
8.4.1	La població de risc	188
8.4.2	Instruments per recollir la informació: els qüestionaris	188
8.4.3	Recollida de la informació	189
8.4.4	Registre de la informació	189
8.4.5	Recollida de mostres clíniques	190
8.4.6	Planificació i execució de la visita o inspecció a l'establiment	192
8.4.6.1	Entrevista a les persones responsables i als manipuladors de l'establiment	192
8.4.6.2	Diagrama de fluxos de les operacions	194
8.4.6.3	Anàlisi de les conductes de risc	194
8.4.6.4	Recollida de mostres d'aliments	195
8.4.6.5	Investigació de la font d'infecció i els mecanismes de contaminació	196
8.5	Anàlisi epidemiològica de les dades obtingudes	197
8.5.1	Corba temporal epidèmica	198
8.5.2	Estudi de l'associació entre els aliments i la malaltia	198
8.6	Conclusions i elaboració de l'informe	201
8.7	La comunicació amb les persones afectades i els mitjans de comunicació	202
9	Anàlisi microbiològica de les toxiinfeccions	207
9.1	Tècniques tradicionals <i>versus</i> tècniques moleculars	207
9.2	Diagnòstic etiològic dels pacients	209
9.2.1	Plantejament global de l'estudi	209
9.2.2	Recollida i transport de les mostres	210
9.2.3	Estudi bacteriològic	210
9.2.4	Estudi virològic	219
9.2.5	Estudi parasitològic	220
9.3	Anàlisi microbiològica dels aliments	221
9.3.1	Transport de les mostres al laboratori	221
9.3.2	Estudi bacteriològic	222
9.3.3	Estudi virològic	233
9.3.4	Estudi parasitològic	233
10	Mètodes epidemiològics per a l'estudi dels agents de toxiinfeccions alimentàries	245
10.1	Tècniques fenotípiques	245
10.2	Tècniques genotípiques	246

11	Altres patògens vehiculats per aliments	249
11.1	Bacteris	249
11.1.1	Estreptococ betahemolític	249
11.1.2	Salmonel·les tifòdiques	251
11.1.3	Brucel·la	253
11.1.4	Listèria	256
11.2	Virus	258
11.2.1	Virus de l'hepatitis A	258
11.2.2	Virus de l'hepatitis E	261
11.3	Paràsits	263
11.3.1	Toxoplasma	263
11.3.2	Fascíola i altres tremàtodes	266
11.3.3	Cestodes	268
11.3.4	Triquina	270
11.3.5	Anisàkids	272
11.3.6	Geohelmints	273
12	Prions	279

1. Introducció

Satisfer les necessitats nutritives de la població, amb les peculiaritats dels estils de vida actuals, ha conduït arreu del món a un increment tant de la quantitat com de la complexitat de la producció d'aliments. Això ha condicionat canvis en la seva elaboració, conservació, manipulació i preparació. Alguns d'aquests canvis han significat una millora de la seva qualitat; d'altres, però, han incorporat un risc addicional que cal controlar i evitar, ja que poden vehicular, de forma natural o afegits accidentalment, diversos elements nocius que causen malalties a les persones.

A mesura que la població creix, augmenten tant les necessitats d'aliments com de tractament adequat dels residus orgànics i químics que els podrien contaminar. A la vegada, l'increment constant en les necessitats d'espai per a la producció d'aliments i l'eliminació de residus contrasta amb l'extensió limitada de les zones adequades per desenvolupar aquests processos, per la qual cosa es produeix una pressió ecològica que desafia la capacitat d'obtenir aliments suficients en condicions òptimes. Les noves condicions de producció no han aconseguit eliminar totalment el perill dels patògens tradicionals, i alhora han afavorit l'emergència i la difusió de patògens nous¹. Així mateix, el creixement de la població i les migracions, amb augmentos no planificats de la població en zones molt determinades, i els intercanvis comercials massius de productes d'origen geogràficament distant, són factors que afavoreixen l'aparició de toxiinfeccions alimentàries i la seva consideració com a problema de salut emergent.^{2,3,4}

Pel fet de constituir una necessitat bàsica i al mateix temps una causa potencial de malaltia, els aliments adquireixen cada dia més importància tant des d'una perspectiva de salut individual com des del punt de vista de la salut comunitària. Els elements nocius que poden trobar-se als aliments són molt variats i inclouen substàncies tòxiques i microorganismes patògens amb capacitat específica per produir malalties infeccioses.

Els tòxics poden formar part natural dels aliments, com els que es troben a diversos vegetals i bolets verinosos, o bé arribar-hi durant el procés de producció, com pesticides, metalls pesants o toxines d'origen biològic que poden causar afectació neurològica, hepàtica o gastrointestinal.

Les infeccions d'origen alimentari són causades per microorganismes patògens vehiculats per aliments, alguns dels quals poden produir gastroenteritis, com les salmonel·les o els campilobacteris, i altres infeccions sistèmiques, com la brucel·la o la listèria.

Atesa la possibilitat que les malalties vehiculades per aliments estiguin causades per tòxics químics o d'origen biològic, o per microorganismes patò-

gens, s'han anomenat toxiinfeccions alimentàries (TIA), encara que la seva complexitat fa difícil incloure-les en un únic terme integrador. Al proper apartat es presenten les diferents accepcions d'aquesta denominació.

La majoria d'aquestes malalties es poden evitar d'una manera eficaç si s'empren mesures adequades tant durant la manipulació i conservació dels aliments als centres de producció com a la cuina durant la preparació.

Encara que la probabilitat que els aliments vehiculin elements nocius es pot fer disminuir, mai no estaran lliures de risc per diversos motius; així, els aliments esterilitzats es poden tornar a contaminar durant la manipulació; algunes toxines sobreviuen a l'escalfament i algunes persones són sensibles a determinats aliments que els produeixen malalties al·lèrgiques.

Tanmateix, el risc d'emmalaltir quan es mengen aliments que han estat elaborats i processats amb sistemes adequats és baix.¹ L'estratègia general per a la prevenció de les toxiinfeccions alimentàries es fonamenta en la comprensió adequada dels mecanismes pels quals es produeix la contaminació dels aliments i les condicions sota les quals causen les malalties per tal d'interrompre'ls.

El nombre creixent de toxiinfeccions alimentàries que es produeixen arreu del món, fins i tot als països més desenvolupats, és conseqüència de diversos factors: la globalització creixent en el subministrament de matèries primeres i productes alimentaris;^{5,6} l'increment del consum d'aliments crus o mínimament tractats;⁶ l'elevada quantitat de persones que mengen fora de casa habitualment per motius laborals o d'estudis;⁷ l'augment del nombre de persones grans, un col·lectiu que és especialment susceptible a algunes d'aquestes malalties,^{8,9} i el nombre cada cop més elevat d'individus immunodeprimits per diferents causes.^{3,4,9-11}

Un dels objectius fonamentals en l'àmbit de la salut pública és assolir el coneixement precís de la incidència i les característiques epidemiològiques d'aquestes malalties com a element previ i imprescindible per al seu control. Els brots són la part coneguda de les toxiinfeccions alimentàries i del seu estudi s'obté una informació molt valuosa, però la majoria de casos es presenten esporàdicament.^{2,12,13} En un estudi realitzat a Suècia, el 68 % dels casos de toxiinfeccions alimentàries eren esporàdics.¹⁴

En aquesta segona edició de la Guia per a la prevenció i el control de les toxiinfeccions alimentàries es presenta l'etiologia, la patogènia, el tractament i, fonamentalment, la profilaxi de les toxiinfeccions alimentàries més importants i freqüents al nostre medi. Com que està dirigida als professionals sanitaris, tracta de les normes de declaració, recollida de mostres i mesures de prevenció. D'altra banda, com que està orientada també als professionals que treballen en les àrees de control sanitari de les indús-

tries alimentàries, informa sobre les normes de conservació i les mesures de preparació dels aliments per tal d'evitar aquestes malalties.

1.1 Toxiinfeccions alimentàries. Concepte i classificació

Com passa amb molts altres problemes que afecten la salut de la comunitat, no hi ha una interpretació unànime per a aquest terme. Per toxiinfecció alimentària (*food poisoning*, en anglès) s'entén qualsevol malaltia de naturalesa tòxica o infecciosa que està causada pel consum d'un aliment o aigua.¹⁵

Aquesta definició, que és la que segueixen alguns països com el Regne Unit, inclou no només les malalties agudes caracteritzades per diarrea o vòmits, que són les que en alguns països s'inclouïen sota aquest terme, sinó qualsevol altra malaltia encara que no produeixi símptomes gastrointestinals, com el botulisme, la listeriosi, la brucel·losi, l'escombrotòxisme i la intoxicació paralítica per marisc, entre d'altres. D'aquesta definició s'exclouen explícitament les al·lèrgies i les intoleràncies alimentàries.¹³

En l'actualitat, més utilitzat que el terme de toxiinfecció alimentària és el de malaltia transmesa per aliments (*foodborne disease*), que ha estat definida com a malaltia que resulta de la ingesta d'aliments contaminats amb microorganismes, toxines microbianes o toxines químiques.¹²

Per motius estrictament culturals i de tradició, al nostre país, com a França i al Regne Unit, s'utilitza més la denominació toxiinfecció alimentària que malaltia transmesa per aliments. Clàssicament, a Catalunya el terme toxiinfecció alimentària s'ha restringit a les malalties vehiculades per aliments que s'expressaven fonamentalment per símptomes de gastroenteritis o neurològics.

En aquest text s'estudien, en primer lloc i amb més èmfasi, les toxiinfeccions alimentàries en sentit tradicional, és a dir les que s'expressen per una síndrome de gastroenteritis o neurològica i, posteriorment (vegeu l'apartat 11), es presenten altres malalties transmises per aliments d'origen microbià que donen lloc a quadres clínics focals o sistèmics, diferents dels esmentats.

Si bé algunes de les definicions comentades (les de l'Organització Mundial de la Salut i el Regne Unit) inclouen tant les malalties vehiculades per aliments com les vehiculades per aigua, ateses les particularitats que planteja el control de l'aigua, a Catalunya, com es fa a Espanya i a molts altres països, exclouem les malalties vehiculades per aigua de les toxiinfeccions alimentàries.

Davant d'un procés agut amb manifestacions gastrointestinals o neurològiques que afecti dues o més persones que han compartit un àpat durant

els dies previs a l'inici de la simptomatologia, s'ha de considerar la possibilitat d'un brot de toxiinfecció alimentària. Per a determinades malalties greus, com el botulisme o la gastroenteritis per *Escherichia coli* O157:H7, hi ha bastant consens que un sol cas justifica la notificació i l'inici de les investigacions per tal d'esbrinar l'aliment que l'ha vehiculat i adoptar les mesures de control adequades.^{16,12,17}

Quan es declara la sospita d'un brot, arran de la seva investigació es podrà catalogar, si escau, com a corresponent a una toxiinfecció alimentària, però quan es declaren casos esporàdics de malalties transmeses per aliments entren en la seva rúbrica particular i no són comptabilitzats com a toxiinfeccions alimentàries.^{18,13} Això explicaria que malalties com la brucel·losi, la febre tifoide, la shigel·losi, l'hepatitis A i el còlera, entre d'altres, que molt sovint es vehiculen per aliments, siguin registrades com a tals però no es reflecteixin adequadament a les estadístiques de toxiinfeccions alimentàries.

La taula 1 mostra la classificació de les toxiinfeccions alimentàries segons la seva etiologia, i a les taules 2 i 3 les principals síndromes clíniques que ocasionen.

Taula 1. Classificació de les toxiinfeccions alimentàries segons la seva etiologia

Etiologia infecciosa	Síndrome o patologia
Microorganismes invasors	
<i>Salmonella enterica</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Shigella</i> <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Causen gastroenteritis; la diarrea n'és el signe clínic predominant, que pot arribar a ser sanguinolenta. Sovint s'associa a dolor abdominal i febre.
<i>Norovirus</i> Altres caliciviruses <i>Rotavirus</i> <i>Astrovirus</i>	Causen un quadre amb predomini de nàusees i vòmits associats a diarrea, febrícula i dolor abdominal de curta duració.
<i>Cryptosporidium</i> <i>Isoospora</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Balantidium coli</i>	Segons l'agent, es pot manifestar com un quadre de diarrea indiferenciada fins a una síndrome disenterica amb mucositat, sang i tenesme.
<i>Giardia duodenalis</i> ¹	Nàusees, flatulència i diarrea
Microorganismes toxigènics	
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Vibrio cholerae</i> O1; O139 <i>Escherichia coli</i> toxigèniques <i>Clostridium botulinum</i>	Nàusees i vòmits Diarrea Nàusees i vòmits. Diarrea Diarrea aquosa intensa (còlera) Diarrea aquosa intensa (coleriforme) Botulisme
Etiologia no infecciosa²	
Tòxics animals	
Peixos: Escombrotòxina Ciguatoxina	Síndrome histamínica Síndrome neurològica
Marisc: (Microplàncton)	Síndrome neurològica
Tòxics vegetals	
Bolets verinosos Altres vegetals	Síndromes muscarínica, atropínica, fal·loídínica
Micotoxines	Síndrome ergòtica, nefrotoxicitat, hepatotoxicitat

1 El mecanisme patogènic de *Giardia duodenalis* no és invasor i es desconeix.

2 Aquest grup de toxiinfeccions alimentàries es podria anomenar amb tota propietat "intoxicacions alimentàries" perquè no tenen origen microbià i estan produïdes per tòxics naturals o incorporats accidentalment. No donen lloc a quadre clínic d'enteritis, sinó a processos hematològics, renals o hepàtics de gravetat diversa.

Taula 2. Principals característiques clíniques de les toxiinfeccions alimentàries d'origen infecciós

Síntomes	Període d'incubació	Agents possibles
Nàusees i vòmits	< 6 h	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i>
Dolor abdominal i diarrea	8-16 h	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i>
Febre, dolor abdominal i diarrea (sang en formes greus)	16-48 h	<i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Campylobacter</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
Diarrea, dolor abdominal i febre (sang en les formes greus). Hi ha formes amb dolor abdominal sense diarrea (pseudoapendicitis)	48-120 h	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Diarrea, sovint amb sang i sense febre	72-120 h	<i>Escherichia coli</i> O157:H7
Diarrea aquosa i dolor abdominal	16-72 h	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigènica <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Vibrio cholerae</i> no O1, O139 <i>Campylobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>
Vòmits i diarrea sense sang	24-48 h	Calicivirus (<i>Norovirus</i> , <i>Sapovirus</i>)
Paràlisi flàccida associada a nàusees, vòmits i diarrea	18-36 h	<i>Clostridium botulinum</i>

Taula 3. Principals característiques clíniques de les toxiinfeccions alimentàries causades per toxines no bacterianes

Síntomatologia	Període d'incubació	Etiologia
Nàusees, vòmits i dolor abdominal	< 1 h	Metalls pesants
Parestèsies	< 1 h	Intoxicació per marisc Síndrome del restaurant xinès Escumbrotòxina (histamina) Niacina
Parestèsies	1-6 h	Intoxicació paralítica per marisc
Síndrome d'intoxicació per bolets	< 2 h	Bolets tòxics
Dolor abdominal amb febre i diarrea	6-24 h	Bolets que contenen amatoxines i fal·lotoxines

Bibliografia

1. Snowdon JA, Buzby JC, Roberts T. Epidemiology, cost and risk of foodborne disease. A: Cliver DO, Riemann HP, editors. Foodborne Diseases. 2a ed. Amsterdam: Academic Press, 2002: 31-51.
2. Tauxe RV, Hughes JM. International investigation of outbreaks of foodborne disease. *BMJ* 1996; 313: 1093-1094.
3. Heymann D. Infectious agents. A: Detels R, McEwen J, Beaglehole R, Tanaka H, editors. Oxford Textbook of Public Health. 4a ed. Oxford: Oxford University Press, 2002: 171-194.
4. Hinman AR. Perspective on emergence and control of infectious diseases worldwide. A: Long SS, Pickering LK, Prober CG, editors. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 2a ed. Nova York: Churchill Livingstone, 2003: 791-810.
5. Tauxe RV. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 425-434.
6. Rocourt J, Moy G, Vierk K, Schlundt J. The present state of foodborne disease in OECD countries. Geneva: World Health Organization, 2003. Disponible a: <www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/oecd_fbd.pdf> [consultat: 18 de juliol de 2005].
7. Collins JE. Impact of changing consumer lifestyles on the emergence/re-emergence of foodborne pathogens. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 471-479.
8. Djuretic T, Ryan MJ, Fleming DM, Wall PG. Infectious intestinal disease in elderly people. *Commun Dis Rep CDR Rev* 1996; 6: R107-112.
9. Smith JL. Foodborne illness in the elderly. *J Food Prot* 1998; 61: 1229-1239.
10. Werner SB. Food poisoning. A: Wallace RB, editor. Public Health and Preventive Medicine. 14a ed. Stamford: Appleton and Lange, 1998: 263-271.
11. Kaplan JE, Hanson D, Jones J. Opportunistic infections (OIs) as emerging infectious diseases: challenges posed by OIs in the 1990's and beyond. A: Scheld WM, Craig WA, Hughes JM, editors. Emerging Infections 2. Washington DC: ASM Press, 1998: 257-272.
12. Fry AM, Braden CR, Griffin PM, Huges JM. Foodborne disease. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 1286-1301.
13. Rooney R, O'Brien SJ, Mitchell R, Stanwell-Smith R, Cook PE. Survey of local authority approaches to investigating sporadic cases of suspected food poisoning. *Commun Dis Public Health* 2000; 3:101-105.
14. Lindqvist R, Andersson Y, Lindback J, Wegscheider M, Eriksson Y, Tidestrom L, et al. A one-year study of foodborne illnesses in the municipality of Uppsala, Sweden. *Emerg Infect Dis* 2001; 7 (3 supl): 588-592.

15. World Health Organization. Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. Third report 1982. Berlín: Institute of Veterinary Medicine-Robert von Ostertag Institute, 1984.
16. Bayas JM, Domínguez A. Intoxicaciones alimentarias de origen bacteriano. JANO 1989; 3: 97-112.
17. Besser J, Beebe J, Swaminathan B. Investigation of foodborne and waterborne disease outbreaks. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 162-181.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and management of foodborne illnesses: a primer for physicians and other health care professionals. MMWR Recomm Rep 2004; 53 (RR-4): 1-33. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/PDF/rr/rr5304.pdf> [consultat: 14 de setembre de 2005].

2. Epidemiologia de les toxiinfeccions alimentàries

2.1 Importància de les toxiinfeccions alimentàries al món desenvolupat

Totes les persones són potencialment susceptibles de patir una toxiinfecció alimentària; ara bé, així com en determinades àrees pot existir en la població una immunitat natural enfront d'alguns agents causals, també cal assenyalar que determinats grups de la població són particularment susceptibles a patir-ne, com els nens i la gent gran, en els quals algunes malalties infeccioses es poden manifestar amb simptomatologia més greu i presentar una tendència més gran a la deshidratació o a l'aparició de sèpsia, cosa que agreuja el pronòstic vital. Aquesta última característica és també pròpia de les persones malaltes immunodeprimides.

Les toxiinfeccions alimentàries han estat considerades, clàssicament, un problema de salut pública als països desenvolupats. Tanmateix, als països en vies de desenvolupament i als països amb crisis ocasionades per catàstrofes naturals o per guerres, on la necessitat d'obtenir menjar suficient per a la població esdevé un objectiu prioritari, les toxiinfeccions alimentàries són un problema de salut pública d'una magnitud extraordinària, molt superior que als països desenvolupats, tot i que les dades oficials disponibles no ho reflecteixin adequadament.^{1,2}

Tant als països desenvolupats com als països en vies de desenvolupament es té la certesa que el problema de les toxiinfeccions alimentàries està subestimat en les estadístiques oficials. L'Organització Mundial de la Salut considera que les dades reals del problema de les toxiinfeccions són de 10 a 100 vegades superiors a les que reflecteixen els diagnòstics realitzats als laboratoris de microbiologia, i poden arribar a ser en alguns països fins a 350 vegades superiors.³ Als Estats Units, en un estudi en què es van fer servir diverses fonts de dades, es va observar que les estadístiques obtingudes a partir de la notificació i la investigació de brots de toxiinfeccions alimentàries mostren, en realitat, només el 0,9 per mil de les persones afectades.⁴

És evident que, com passa amb la majoria dels problemes de salut que afecten les persones, no disposem d'un únic indicador que assenyali de manera vàlida i precisa quina és la dimensió real que tenen les toxiinfeccions alimentàries, és a dir, quantes persones afecten, quantes de les persones afectades requereixen serveis assistencials, quantes requereixen hospitalització i quantes en moren.⁵

La vigilància epidemiològica de les toxiinfeccions alimentàries en un país —entesa com la recollida sistemàtica d'informació que permeti dur a terme les accions necessàries per controlar el problema a curt i a mitjà termini— intentarà fer servir les fonts de dades úniques o combinades que li permetin apropar-se de la millor manera possible a la realitat del problema, però mai no li permetran conèixer-la amb precisió.^{6,7} Entre els diferents sistemes que s'utilitzen per a la vigilància de les toxiinfeccions alimentàries, dos dels emprats més freqüentment són, d'una banda, la notificació obligatòria de brot epidèmic, “dos o més casos que presenten una malaltia similar com a resultat de la ingesta d'un aliment comú”⁸, per part dels metges assistencials i, de l'altra, la notificació, generalment voluntària, per part dels laboratoris de microbiologia dels diagnòstics fets.⁹

En el primer supòsit, quan els metges assistencials són la font d'informació, les limitacions amb què s'ha de comptar per poder fer les estimacions de quina part del total de casos existents suposen els brots notificats són les següents:

- Del total de persones afectades, és a dir, amb símptomes, només una part passen pels serveis sanitaris. Això és degut normalment a la curta durada del quadre clínic de les toxiinfeccions alimentàries, però també es pot explicar pel cost econòmic que, per a la persona malalta, suposa consultar un servei sanitari. Alguns estudis elaborats als països desenvolupats indiquen que només del 5 % al 13,5 % de la població afectada per toxiinfeccions alimentàries consultarien amb els serveis assistencials.¹⁰⁻¹²
- De les persones afectades per toxiinfeccions alimentàries que arriben als serveis assistencials, només una part se'n podrà considerar relacionada amb el consum d'aliments, ja que la simptomatologia que presenten és, habitualment, molt inespecífica i, llevat que els mateixos pacients que hi arriben informin de la possible relació amb el consum d'aliments, o que els metges observin una agregació de casos que puguin tenir un origen comú, no es pot arribar a sospitar de l'aparició d'un brot epidèmic.
- Finalment, cal que els brots detectats com a tals pels serveis assistencials es notifiquin als serveis de salut pública, cosa que no sempre succeeix. Un estudi puntual dut a terme a França sobre la toxiinfecció alimentària més freqüent, la salmonel·losi, indica que només es notifiquen el 15 % dels brots detectats.¹³

En el segon supòsit, quan els laboratoris en són la font d'informació, les limitacions que cal tenir en compte per poder fer estimacions són les següents:

- Del total de persones afectades que van als serveis assistencials, només a una part se'ls practiquen anàlisis microbiològiques que permetin identificar l'agent causal, ja sigui perquè en aquell centre sanitari no es pre-

nen mostres clíniques rutinàriament per realitzar anàlisis microbiològiques a les persones que consulten per gastroenteritis lleus; ja sigui perquè, encara que es practiquin les anàlisis rutinàriament, no s'inclou el diagnòstic de determinats agents perquè són infreqüents, costosos o difícils d'identificar, per exemple *E. coli* O157:H7, *Norovirus* o la toxina estafilocòccica.^{14,15}

- No tots els diagnòstics de toxiinfeccions alimentàries que fan els laboratoris dels serveis assistencials són notificats als serveis de salut pública. A l'estudi esmentat més amunt, que es va elaborar a França, la proporció de brots de toxiinfeccions alimentàries per *Salmonella* (agent inclòs en qualsevol protocol diagnòstic de gastroenteritis) notificats pel laboratori va ser de només el 50 %.^{9,13}

D'altra banda, cal tenir en compte que les comparacions d'incidència de les toxiinfeccions alimentàries entre països o comunitats s'han de fer amb molta precaució, atès que el percentatge de brots notificats pels metges o els aïllaments informats pels laboratoris varien segons les característiques dels sistemes assistencials, tot i que les limitacions per poder fer estimacions siguin similars a tots els països.¹ Així, als Estats Units, durant el període 1993-1997 es van notificar 2.751 brots que van afectar 86.058 persones, i en conseqüència la taxa d'incidència sobre la població va ser de 5,4 per 100.000 persones/any.⁸ A Catalunya, durant el mateix període es van notificar 550 brots que van afectar 7.413 persones, per la qual cosa la taxa d'incidència va ser de 24,3 per 100.000 persones/any.^{16,17} En el període entre 1999 i 2001, a França, país ben proper al nostre, la taxa d'incidència fou de 13,8 per 100.000 persones/any, i a Catalunya, de 32,2 per 100.000 persones/any.¹⁸⁻²⁰ Es fa difícil admetre que a Catalunya la incidència de toxiinfeccions alimentàries sigui gairebé quatre vegades superior que als Estats Units i més del doble que a França. Si comparem les estadístiques oficials del Regne Unit i dels Estats Units, Adak i col·laboradors,²¹ troben que les taxes d'incidència de les malalties transmeses per aliments són 11 vegades superiors als Estats Units. Cal preguntar-se fins a quin punt les estadístiques d'uns i altres països estimen de manera similar el problema. A Suècia un estudi realitzat l'any 1998 va mostrar que la incidència de malalties transmeses per aliments era de 3.800 per 100.000 persones/any.²²

Com s'ha assenyalat anteriorment, cal tenir en compte que alguns països inclouen a les seves llistes de malalties de declaració obligatòria determinades entitats (hepatitis A, febre tifoide, brucel·losi) que sovint són vehiculades per aliments, però en canvi no inclouen els brots d'aquestes malalties que estan vehiculats per aliments en les relacions de brots de toxiinfeccions alimentàries.²³

Taula 4. Incidència d'infeccions identificades a la xarxa de vigilància activa de malalties transmissibles per aliments. Estats Units, 2002

Agent patògen	Taxa d'incidència per 100.000 persones
<i>Salmonella</i>	16,10
<i>Campylobacter</i>	13,17
<i>Shigella</i>	10,34
Síndrome hemolíticourèmica	1,78
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1,73
<i>Cryptosporidium</i>	1,42
<i>Yersinia</i>	0,44
<i>Vibrio</i>	0,27
<i>Listeria</i>	0,27
<i>Cyclospora</i>	0,11

Així, com es pot veure a la taula 4, segons una xarxa de vigilància activa dels Estats Units (FoodNet), que inclou nou patògens i comprèn el 13 % de la població, només la incidència d'infeccions per *Salmonella* transmeses per aliments en aquell país ha estat de 16,10 per 100.000 persones l'any 2002, la de *Campylobacter* de 13,17, i la de *Shigella* de 10,34,²⁴ xifres que, cada una per separat, tripliquen o dupliquen la taxa d'incidència de totes les malalties transmeses per aliments registrades amb el sistema tradicional de vigilància passiva.⁸

Malgrat aquestes limitacions, s'ha observat que en l'última dècada les toxiinfeccions alimentàries han experimentat un increment en la majoria dels països. A tall d'exemple, als Estats Units s'ha passat d'un total de 407 brots notificats l'any 1992 a 504 brots l'any 1997.^{25,8} A França, l'any 1992 hi va haver 300 brots, mentre que l'any 2001 n'hi va haver 559.¹⁸ A Catalunya s'ha passat de 103 brots l'any 1992 a 147 brots l'any 2001. En alguns països, com és el cas d'Espanya, si bé el nombre de brots no ha augmentat (944 brots notificats l'any 1993 i 942 l'any 1998), sí que ho ha fet el nombre de persones afectades per aquests brots.²⁶

Les malalties transmeses per aliments constitueixen un dels problemes de salut pública més importants a escala mundial. Ultrapassen els límits nacionals i són una causa molt freqüent de malaltia humana, de trasbalsament social i de pèrdues econòmiques, que indubtablement afecten el nivell de salut de la població. A més, encara que fins fa poc es considerava que les gastroenteritis infeccioses transmeses per aliments ocasionaven únicament un quadre clínic agut, generalment benigne i autolimitat, actualment se sap que això no sempre és cert, en particular en lactants, gent gran i persones immunodeprimides, i s'estima que el 2 % - 3 % dels casos de toxiinfecció

ció alimentària poden comportar seqüeles.²⁷ *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Shigella* i *Cyclospora* poden ocasionar, després que s'hagi resolt la infecció, una artritis reactiva o fins i tot una síndrome de Reiter, que inclou poliartritis inflamatòria asèptica, uretritis i conjuntivitis,²⁸ i que es dona en persones que hi tenen una predisposició genètica.²⁹ També s'ha relacionat la infecció per *Campylobacter jejuni* amb la síndrome de Guillain-Barré.³⁰

Pel que fa a la letalitat, si bé a escala global és baixa (0,01 % - 0,04 %),^{4,21} en els col·lectius més vulnerables com són les criatures petites, la gent gran o les persones immunodeprimides pot ser molt superior. En un estudi dut a terme al Regne Unit es va observar que el 77 % de totes les defuncions per infeccions intestinals s'havien produït en persones de més de 65 anys.³¹ Des del punt de vista dels costos, les toxiinfeccions alimentàries són també un problema molt important. L'estimació de les despeses que provoquen es fa comptant amb les dades disponibles, les quals, com hem vist anteriorment, són molt limitades i, per tant, cal fer determinades assumpcions en les quals es basen els estudis econòmics. Les despeses varien segons els símptomes i la gravetat de la malaltia, i se'n poden considerar cinc categories diferents: les persones que no van als serveis mèdics; les que sí que hi van; les que s'hospitalitzen; les que moren a causa del procés, i les que presenten complicacions. Així, per a la gastroenteritis per *E. coli* O157:H7 es pot considerar que el 57 % dels casos, és a dir, de les persones infectades que en presenten algun signe o símptoma, no recorren a serveis sanitaris de cap tipus; el 40 % hi van i es recuperen totalment; l'1,5 % presenten colitis hemorràgica, s'hospitalitzen i es recuperen completament; l'1,3 % s'hospitalitzen, presenten la síndrome hemoliticourèmica i es recuperen totalment; menys del 0,1 % amb aquesta síndrome es recuperen però desenvolupen insuficiència renal crònica, mentre que un altre percentatge inferior al 0,1 % amb la síndrome hemoliticourèmica moren durant aquesta fase, i, finalment, menys del 0,1 % que han presentat aquesta síndrome moren durant l'any següent per insuficiència renal. Amb aquest esquema, el cost de les toxiinfeccions per *E. coli* O157:H7 l'any 2000 als Estats Units va ser de 700 milions de dòlars. Amb criteris similars, per a *Salmonella* i *Listeria monocytogenes* les despeses originades serien de 2.400 i 2.300 milions de dòlars, respectivament.¹

Al Canadà, l'any 1988 l'impacte econòmic de 2,2 milions de casos de toxiinfeccions alimentàries es va estimar en 1.330 milions de dòlars canadencs.¹ Un estudi recent elaborat a Nova Zelanda estima el cost anual de les toxiinfeccions alimentàries gairebé en 90 milions de dòlars. A Itàlia, el cost estimat per a cada cas de salmonel·losi és de 74 dòlars si el pacient no requereix hospitalització, i de 1.896 dòlars si ingressa en un centre hospitalari.³²

Quan un brot es produeix en un hospital o en un centre sociosanitari, en particular per un microorganisme amb notable virulència com la salmonel·la, el cost s'incrementa de manera molt considerable.³³

En un estudi fet al Japó, els costos associats a un brot de gastroenteritis per *E. coli* O157:H7 que va afectar 268 persones va ser de 82,6 milions de iens, és a dir, uns 612.500 dòlars.³⁴

El cost estimat per un cas de toxiinfecció alimentària a Suècia és de 246 dòlars.²²

2.2 Etiologia i factors que contribueixen a les toxiinfeccions alimentàries a Catalunya

Les toxiinfeccions alimentàries s'acostumen a presentar en forma de brots epidèmics i n'hi ha tant en l'àmbit familiar com en el comunitari. Els brots comunitaris són els que s'originen per la ingesta d'un aliment contaminat en un establiment públic o una institució, mentre que els brots familiars estan causats pel consum d'aliments a la llar.

La informació sobre les toxiinfeccions alimentàries a Catalunya prové de les notificacions de brots i dels informes generats a partir de la seva investigació per les unitats territorials de vigilància epidemiològica, que es recullen i s'analitzen al Servei de Vigilància Epidemiològica del Departament de Salut.

Els brots de toxiinfeccions alimentàries, com la resta de brots epidèmics, són de declaració obligatòria i urgent a la unitat de vigilància epidemiològica corresponent. No obstant això, cal recordar que en el cas de determinats agents etiològics (*Clostridium botulinum* o *E. coli* verotoxigènica), l'aparició d'un sol cas fa obligatòria la seva notificació de manera urgent i justifica la posada en marxa d'una investigació específica com si es tractés d'un brot.

A Catalunya, durant la darrera dècada s'ha produït un increment global en el nombre de brots de toxiinfeccions alimentàries declarats, que afecta tant els brots d'àmbit familiar com els no familiars. Aquest augment segurament està influenciat per una millora en la notificació dels brots i és més evident en el cas dels brots familiars, els quals per les seves característiques són més susceptibles de tenir una infranotificació superior (figura 1).

El nombre de persones afectades per brot s'ha mantingut en unes xifres relativament estables al llarg del període estudiat (taula 5). Els brots familiars presenten una mitjana que oscil·la entre 4 i 6 persones afectades per brot al llarg dels anys estudiats, mentre que els brots no familiars registren una mitjana que oscil·la entre 16 i 27 persones afectades per brot.

Figura 1. Evolució temporal dels brots de toxiinfeccions alimentàries. Catalunya, 1991-2003



Taula 5. Distribució anual del nombre de brots de toxiinfeccions alimentàries. Persones afectades, hospitalitzades i defuncions. Catalunya, 1991-2003

Any	Brots			Persones afectades			Persones hospitalitzades			Defuncions		
	F	NF	Total	F	NF	Total	F	NF	Total	F	NF	Total
1991	21	82	103	133	1.864	1.997	8	91	99	0	0	0
1992	45	58	103	218	1.406	1.624	46	109	155	0	0	0
1993	60	66	126	366	1.451	1.817	55	64	119	0	0	0
1994	36	59	95	155	1.013	1.168	37	77	114	0	1	1
1995	44	55	99	172	1.296	1.468	62	84	146	3	0	3
1996	48	71	119	205	1.578	1.783	37	41	78	1	0	1
1997	37	63	100	171	974	1.145	27	32	59	0	0	0
1998	53	67	120	239	1.658	1.897	45	97	142	0	0	0
1999	66	70	136	318	1.398	1.716	70	60	130	0	2	2
2000	50	60	110	285	1.599	1.884	52	36	88	0	0	0
2001	59	92	151	302	1.983	2.285	50	105	155	0	0	0
2002	74	88	162	344	3.774	4.118	74	186	260	0	0	0
2003	69	78	147	339	1.326	1.665	67	79	146	1	0	1
Total	662	909	1.571	3.247	21.320	24.567	630	1.061	1.691	5	3	8

F: familiars. NF: no familiars.

Aquesta estabilitat en les xifres només es veu trencada durant l'any 2002 a causa d'un brot produït durant el mes de juny a conseqüència de la ingesta d'unes coques de crema contaminades per salmonel·la, que va produir més d'un miler de persones afectades.

El nombre de persones afectades que han requerit ingrés hospitalari és variable pel que fa als brots familiars (oscil·la entre un 6 % i un 36 % de la població afectada); pel que fa als no familiars, entre un 3 % i un 8 % de les persones afectades han necessitat hospitalització.

Durant el període estudiat s'han produït 8 defuncions a conseqüència dels brots de toxiinfeccions alimentàries, 5 en l'àmbit familiar i 3 en l'àmbit no familiar. Les morts en els brots familiars han estat causades per bolets en tres dels casos, per una planta tòxica en un i per salmonel·la en un altre cas; les tres defuncions en l'àmbit no familiar han estat originades per salmonel·la.

En la distribució dels brots al llarg de l'any s'observa un clar predomini durant els mesos de més calor, de manera que s'han produït durant el període comprès entre els mesos de juny i setembre més del 50 % dels brots, tant pel que fa als d'àmbit familiar com als produïts fora d'aquest (figura 2).

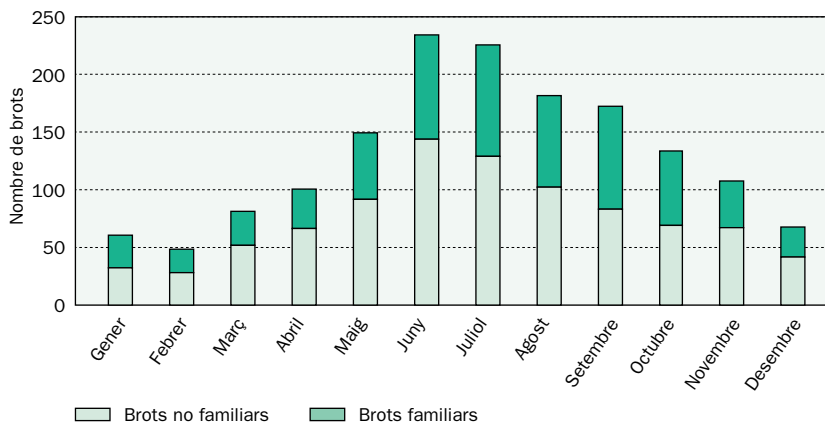
Pel que fa al lloc de producció, els brots apareguts en l'àmbit familiar i en el de l'hostaleria són els que representen un percentatge més elevat, amb molta distància respecte a la resta d'àmbits (taula 6).

En relació amb l'agent etiològic, la salmonel·la, i concretament el serotip Enteritidis, és el microorganisme més freqüentment implicat en els brots amb etiologia coneguda, tant en l'àmbit familiar com a la resta d'àmbits (taula 7). Cal destacar que a partir de l'any 2001 s'ha registrat un augment important de brots en els quals l'agent causal ha estat el *Norovirus* (calicivirus). Això s'hauria d'interpretar per un augment en la detecció d'aquest microorganisme gràcies a la implementació i millora de les tècniques de laboratori, que permeten en l'actualitat la identificació d'aquests agents que no es detectaven habitualment.

En un 35 % dels brots no s'ha pogut trobar l'agent etiològic. Per diverses raons, cada any hi ha un percentatge no menyspreable de brots en els quals no és possible identificar l'agent causal. Això és freqüent fins i tot a països amb un alt nivell tecnològic (Canadà, Catalunya, Estats Units, França...), en els quals entre el 30 % i el 60 % dels brots no s'arriba a conèixer l'agent que l'ha originat.

En els brots, la maionesa i salses similars elaborades amb ou cru continuen representant el percentatge més gran, especialment en l'àmbit familiar. No obstant això, i atès que en la restauració col·lectiva hi ha una normativa que obliga a elaborar aquests aliments amb ou pasteuritzat o liofilitzat, durant els darrers anys s'ha observat una disminució considerable dels brots ocasionats per aquests aliments dins aquest àmbit. Al con-

Figura 2. Distribució mensual dels brots de toxiinfeccions alimentàries. Catalunya, 1991-2003



Taula 6. Distribució dels brots de toxiinfeccions alimentàries segons l'àmbit. Catalunya, 1991-2003

Àmbit	Brots	
	n	%
Familiar	662	42,1
Hostaleria	606	38,6
Escoles / Llars d'infants	64	4,1
Botigues d'alimentació	64	4,1
Pastisseries	37	2,3
Cases de colònies	34	2,2
Comunitat	24	1,5
Residències geriàtriques	20	1,3
Centres terapèutics	17	1,1
Menjadors laborals	14	0,9
Càmpings	7	0,4
Altres	22	1,4
Total	1.571	100

Taula 7. Distribució dels brots de toxiinfeccions alimentàries segons l'agent etiològic. Catalunya, 1991-2003

Agent etiològic	Total brots		Familiars		No familiars	
	n	%	n	%	n	%
<i>Salmonella</i> Enteritidis	525	33,4	231	34,9	294	32,3
<i>Salmonella</i> Typhimurium	25	1,6	9	1,4	16	1,8
Altres salmonel·les	276	17,6	167	25,2	109	11,9
<i>Campylobacter</i> spp.	7	0,4	3	0,5	4	0,5
<i>Shigella</i> spp.	7	0,4	3	0,5	4	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	1,9	8	1,2	22	2,4
<i>Clostridium perfringens</i>	34	2,2	1	0,2	33	3,6
<i>Bacillus cereus</i>	13	0,8	1	0,2	12	1,3
<i>Clostridium botulinum</i>	3	0,2	3	0,5	0	0,0
<i>Escherichia coli</i>	2	0,1	0	0,0	2	0,2
Virus de Norwalk	33	2,1	5	0,8	28	3,1
Bolets / planta tòxica	36	2,3	26	3,9	10	1,1
Histamina	24	1,5	6	0,9	18	2,0
Altres	7	0,5	6	0,9	2	0,2
Sense determinar	549	34,8	193	28,9	355	39,4
Total	1.571	100	662	100	909	100

Taula 8. Distribució dels brots de toxiinfecció alimentària segons l'aliment implicat. Catalunya, 1991-2003

Aliments implicats	Brots		Familiars		No familiars	
	n	%	n	%	n	%
Maionesa i similars	330	21,0	204	30,8	126	13,8
Altres aliments amb ou	128	8,1	61	9,2	67	7,4
Peix i marisc	106	6,7	26	3,9	80	8,8
Carn i embotits	93	5,9	22	3,3	71	7,8
Pollastre, aus	32	2,0	7	1,1	25	2,7
Rebosteria, pastisseria	63	4,1	15	2,2	48	5,3
Bolets	51	3,2	47	7,1	4	0,4
Llet i derivats	28	1,8	14	2,2	14	1,6
Altres	52	3,4	12	1,8	40	4,5
Sense determinar	688	43,8	254	38,4	434	47,7
Total	1.571	100	662	100	909	100

Taula 9. Distribució dels brots de toxiinfecció alimentària segons els factors coadjuvants. Catalunya, 1991-2003

Factors coadjuvants	Total brots
Manipulació no higiènica dels aliments	265
Emmagatzematge/conservació incorrectes	143
Conservació a temperatura ambient	162
Utilització d'ous no pasteuritzats (en restauració col·lectiva)	153
Separació incorrecta d'aliments crus/cuinats	167
Manipulador infectat	80
Preparació dels menjars amb molta antelació	77
Desproporció entre treball i capacitat de la cuina	26
Cocció insuficient	25
Descongelació defectuosa	20
Utilització d'aigua no tractada	10
Utilització de restes d'aliments	14
Utilització d'aliments caducats	6
Altres	71
Sense determinar	353

trari, s'ha registrat un augment del nombre de brots ocasionats per altres ovoproductes, els quals, tot i que es consumeixen cuits o fregits (ous ferrats, truites...), no han tingut una cocció suficient.

Les rúbriques peix/marisc i carn/embotit constitueixen també una causa important de toxiinfeccions alimentàries, sobretot pel que fa als brots d'àmbit no familiar, mentre que a les famílies les intoxicacions per bolets segueixen en ordre de freqüència a les causades per ovoproductes (taula 8).

Quant als factors que han pogut contribuir a la producció dels brots, el que s'ha detectat amb una freqüència considerablement més alta ha estat la manipulació dels aliments sense mantenir unes normes higièniques adequades. La conservació dels aliments a temperatura ambient un cop cuinats i la separació no adequada entre aliments crus i cuinats, que afavoreix la contaminació encreuada, són també factors molt importants, així com l'emmagatzematge i la conservació incorrectes en general i la utilització d'ous no pasteuritzats en restauració col·lectiva per a l'elaboració d'aliments que es consumiran crus, malgrat que la normativa dicta el contrari (taula 9).

Encara que les toxiinfeccions alimentàries són de distribució universal, la freqüència amb què es produeixen els brots per cada un dels diferents agents causals és molt variable, segons la contaminació en origen dels aliments, els hàbits d'alimentació i les pràctiques de manipulació. La seva

detecció depèn dels criteris pels quals s'acudeix als serveis sanitaris i de la disponibilitat de tècniques diagnòstiques a cada comunitat.

Les salmonel·les continuen essent els microorganismes més freqüentment implicats com a causants de brots de toxiinfeccions alimentàries a molts països. A l'Estat espanyol, en un estudi que recull les dades de brots de toxiinfeccions alimentàries corresponents al període 1993-1998, entre els brots en els quals es coneix l'etiologia, la salmonel·la i, en concret el serotip Enteritidis, és el microorganisme identificat més sovint com a causa del brot, amb molta distància respecte a la resta de microorganismes. Els ous i ovoproductes són els aliments més freqüentment implicats com a origen dels brots.³⁵

Una situació similar s'observa en altres països europeus (Suïssa, França, Itàlia, Alemanya i Regne Unit), mentre que n'hi ha d'altres (Holanda i Noruega) en els quals la salmonel·la es veu superada en ordre de freqüència per *Bacillus cereus*. A Suècia, durant l'any 1999, l'origen víric dels brots de toxiinfeccions alimentàries va ser més freqüent que l'origen bacterià, i els calicivirus van ser els agents que van ocasionar el percentatge més elevat dels brots declarats.³⁵

El lloc que ocupen els calicivirus entre els brots investigats depèn lògicament del fet que es protocol·litzi el seu estudi sistemàtic i de les tècniques de laboratori emprades per aquest fi, atès que s'incrementa molt la capacitat de detecció quan s'utilitzen tècniques d'amplificació genètica (PCR). En un estudi dut a terme a Espanya, en 14 dels 30 brots investigats (46 %), l'agent etiològic va ser *Norovirus*.³⁶ També als Estats Units la introducció de la PCR l'any 1990 va incrementar el percentatge dels brots atribuïbles a *norovirus* (virus de Norwalk) des de xifres inferiors a l'1 % l'any 1990 fins al 12 % dels brots l'any 2000. No obstant això, es considera que hi ha una infraestimació notable en la consideració d'aquests virus com a causa de brots de toxiinfeccions alimentàries.^{37,8}

Bibliografia

1. Snowdon JA, Buzby JC, Roberts T. Epidemiology, cost and risk of foodborne disease. A: Cliver DO, Riemann HP, editors. Foodborne Diseases. 2a ed. Amsterdam: Academic Press, 2002: 31-51.
2. Käferstein FK, Abdussalam M. Food safety in the 21st century. Bull World Health Organ 1999; 77: 347-351.
3. Motarjemi Y, Käferstein FK. Global estimation of foodborne diseases. World Health Stat Q 1997; 50: 5-11.
4. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. Emerg Infect Dis 1999; 5: 607-625.
5. Tauxe RV, Swerdlow DL, Hughes JM. Foodborne disease. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5a ed. Filadèlfia: Churchill Livingstone, 2000: 1150-1164.
6. Borgdorff MW, Motarjemi Y. Surveillance of foodborne diseases: what are the options? World Health Stat Q 1997; 50: 12-23.
7. Rocourt J, Moy G, Vierk K, Schlundt J. The Present State of Foodborne Disease in OECD Countries. Geneva: World Health Organization, 2003. Disponible a: <www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/oecd_fbd.pdf> [consultat: 18 de juliol de 2005].
8. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne-disease Outbreaks United States, 1993-1997. MMWR Surveill Summ 2000; 49 (SS1): 1-51. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss4901a1.htm> [consultat: 18 de juliol de 2005].
9. Atkinson P, Maguire H. Is food poisoning a clinical or a laboratory diagnosis? A survey of local authority practices in the South Thames region. Commun Dis Public Health 1998; 1: 161-164.
10. Notermans S, Van de Giessen A. Foodborne diseases in the 1980's and 1990's. Food Control 1993; 4: 122-124.
11. Hodges I. Raw to cooked: community awareness of safe food handling practices. Wellington: Health Research and Analytical Services, Ministry of Health, 1993.
12. Norling B. Food poisoning in Sweden: results of a field survey. Report No 41/94. Uppsala: National Food Administration, 1994.
13. Gallay A, Vaillant V, Bouvet P, Grimont P, Desenclos JC. How many foodborne outbreaks of Salmonella infection occurred in France in 1995? Application of the capture-recapture method to three surveillance systems. Am J Epidemiol 2000; 152: 171-177.
14. Bresee JS, Widdowson MA, Monroe SS, Glass RI. Foodborne viral gastroenteritis: challenges and opportunities. Clin Infect Dis 2002; 35: 748-753.
15. Hall JA, Goulding JS, Bean NH, Tauxe RV, Hedberg CW. Epidemiologic profiling: evaluating foodborne outbreaks for which no pathogen was isolated by routi-

ne laboratory testing: United States, 1982-1989. *Epidemiol Infect* 2001; 127: 381-387.

16. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1993. *Butlletí Epidemiològic de Catalunya* 1994; XV: 93-106.
17. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1997. *Butlletí Epidemiològic de Catalunya* 1998; XIX desembre (extraordinari): 167-174. Disponible a: <www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec122.pdf> [consultat: 24 de juliol de 2005].
18. Haeghebaert S, Le Querrec F, Bouvet P, Gallay A, Espié E, Vaillant V. Les toxiinfections alimentaires collectives en France en 2001. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 2002; núm. 50: 249-253. Disponible a: <www.invs.sante.fr/beh/2002/50/beh_50_2002.pdf> [consultat: 24 de juliol de 2005].
19. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 1999. *Butlletí Epidemiològic de Catalunya* 2000; XXI juliol (extraordinari): 97-105. Disponible a: <www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec71.pdf> [consultat: 24 de juliol de 2005].
20. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Brots epidèmics declarats a Catalunya l'any 2001. *Butlletí Epidemiològic de Catalunya* 2002; XXIII octubre (extraordinari): 137-146. Disponible a: <www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/bec1002ex.pdf> [consultat: 24 de juliol de 2005].
21. Adak GK, Long SM, O'Brien SJ. Trends in indigenous foodborne disease and deaths, England and Wales: 1992 to 2000. *Gut* 2002; 51: 832-841.
22. Lindqvist R, Andersson Y, Lindback J, Wegscheider M, Eriksson Y, Tidestrom L, et al. A one-year study of foodborne illnesses in the municipality of Uppsala, Sweden. *Emerg Infect Dis* 2001; 7 (3 supl.): 588-592.
23. Rooney R, O'Brien SJ, Mitchell R, Stanwell-Smith R, Cook PE. Survey of local authority approaches to investigating sporadic cases of suspected food poisoning. *Commun Dis Public Health* 2000; 3: 101-105.
24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses, selected sites, United States, 2002. *MMWR Weekly* 2003; 52: 340-343. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5215a4.htm> [consultat: 24 de juliol de 2005].
25. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne-disease Outbreaks, United States, 1988-1992. *MMWR Surveill Summ* 1996; 45 (SS5): 1-66. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00044241.htm> [consultat: 24 de juliol de 2005].
26. World Health Organization (WHO). Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. Seventh Report 1993-1998. Berlin: Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medi-

cine. Disponible a: <www.bgvv.de/internet/7threport/7threp_fr.htm> [consultat: 24 de juliol de 2005].

27. Lindsay JA. Chronic sequelae of foodborne disease. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 443-452.
28. Dworkin MS, Shoemaker PC, Goldoft MJ, Kobayashi JM. Reactive arthritis and Reiter's syndrome following an outbreak of gastroenteritis caused by *Salmonella enteritidis*. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1010-1014.
29. Barth WF, Segal K. Reactive arthritis (Reiter's syndrome). *Am Fam Physician* 1999; 60: 499-503, 507.
30. Mishu B, Ilyas AA, Koski CL, Vriesendorp F, Cook SD, Mithen FA, et al. Serologic evidence of previous *Campylobacter jejuni* infection in patients with the Guillain-Barré syndrome. *Ann Intern Med* 1993;118: 947-953.
31. Djuretic T, Ryan MJ, Fleming DM, Wall PG. Infectious intestinal disease in elderly people. *Commun Dis Rep CDR Rev* 1996; 6: R 107-112.
32. Lopalco PL, Germinario C, Di Martino V, Frisoli L, Pagano A, Quarto M, et al. Epidemiologic study and cost analysis of a *Salmonella enteritidis* epidemic. *Ann Ig* 2000; 12: 279-285.
33. Spearing NM, Jensen A, McCall BJ, Neill AS, McCormack JG. Direct costs associated with a nosocomial outbreak of Salmonella infection: an ounce of prevention is worth a pound of cure. *Am J Infect Control* 2000; 28: 54-57.
34. Abe K, Yamamoto S, Shinagawa K. Economic impact of an *Escherichia coli* O157:H7 outbreak in Japan. *J Food Prot* 2002; 65: 66-72.
35. World Health Organization (WHO). Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. Eighth Report 1999-2000. Berlin: Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine. Disponible a: <www.bfr.bund.de/internet/8threport/8threp_fr.htm> [consultat: 24 de juliol de 2005].
36. Buesa J, Collado B, López-Andujar P, Abu-Mallouh R, Rodríguez Díaz J, García Díaz A, et al. Molecular epidemiology of caliciviruses causing outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis in Spain. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2854-2859.
37. Widdowson MA, Sulka A, Bulens SN, Beard RS, Chaves SS, Hammond R, et al. *Norovirus* and foodborne disease, United States, 1991-2000. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 95-102.

3. Principals agents microbians de les toxiinfeccions alimentàries

3.1 Agents bacterians

En aquest apartat s'assenyalen els principals microorganismes causants de toxiinfeccions alimentàries que provoquen un quadre de gastroenteritis encara que ocasionalment poden donar una altra patologia, com en el cas de la listèria. També s'hi inclou per raons de tradició l'agent causal del botulisme. Altres microorganismes transmesos per aliments que donen lloc a quadres clínics diferents de la gastroenteritis es recullen als apartats 11 i 12. Molts d'aquests microorganismes requereixen una dosi infecciosa molt elevada, per la qual cosa la seva multiplicació durant el període de conservació de l'aliment és bàsica per a l'aparició de la malaltia. Alguns bacteris tòxigenes, però no tots, alliberen la toxina durant la seva multiplicació als aliments (toxines preformades).

Aquí es fa referència, fonamentalment, als aspectes d'interès en relació amb l'epidemiologia i la prevenció de les infeccions causades per aquests microorganismes.

La gravetat de les infeccions gastrointestinals està associada al grau de deshidratació que causen, i aquest és el factor primordial i més urgent que cal corregir. A la taula 10 s'assenyalen les dades clíniques útils per avaluar el grau de deshidratació.

La terapèutica amb antimicrobians només s'ha mostrat eficaç en alguns casos que s'esmenten al llarg del text. L'exposició dels detalls relatius a la terapèutica d'aquestes malalties no és objecte d'aquesta guia i es pot trobar en altres publicacions.¹⁻³

El diagnòstic etiològic d'un brot de toxiinfecció alimentària comporta la presa de mostres del vòmit i la femta de la persona malalta, i dels aliments que presumptament hi estan implicats. Les normes per a la recollida de les mostres clíniques es presenten a l'apartat 8.4.5 (i a la taula 27), i les relatives als aliments a l'apartat 8.4.6.4.

3.1.1 *Salmonella*

El gènere *Salmonella* pertany a la família de les enterobacteriàcies, i com a tals són bacils gramnegatius, mòbils, aerobis i anaerobis facultatius que creixen bé als medis usuals de cultiu.

Aquest gènere està format per dues espècies, *Salmonella enterica* i *Salmonella bongori* (antic subgènere —subespècie— V de la classificació de Le Minor et al., 1984). L'espècie tipus és *S. enterica*, que se subdivideix

Taula 10. Avaluació clínica de la deshidratació

Caràcters avaluats	Deshidratació		
	Lleugera	Moderada	Greu*
Aspecte del pacient			
Lactant	Assedegat, despert, agitat	Assedegat, agitat, irritable	Somnolent, fred, cianòtic
Infant i adult	Assedegat, despert	Assedegat, vertigens	Conscient, fred, cianòtic
Pols radial	Normal	Ràpid i dèbil	Ràpid, dèbil o impalpable
Pressió sistòlica	Normal	Normal o baixa	Inferior a 80 mm d'Hg
Fontanel·la anterior (infants)	Normal	Deprimida	Molt deprimida
Elasticitat cutània	Desaparició ràpida del plec	Desaparició lenta del plec	Desaparició molt lenta del plec
Ulls	Normal	Enfonsats	Molt enfonsats
Mucoses	Humides	Seques	Molt seques
Excreció urinària	Normal	Reduïda	Absent des d'hores abans
Pèrdua de pes corporal	4-5 %	6-9 %	10 % o més
Dèficit hídric estimat	40-50 ml/kg	60-90 ml/kg	100-110 ml/kg

No es té en compte el tipus de deshidratació en relació amb l'osmolaritat. Segons el sodi plasmàtic, es pot considerar com a hipotònica si hi ha valors inferiors a 130 mEq/l, isotònica si estan entre 130 mEq/l i 150 mEq/l, i hipertònica quan superen els 150 mEq/l.

*Comporta ingrés hospitalari.

en sis subespècies, *S. enterica* subespècie *enterica* (subespècie I), *S. enterica* subespècie *salamae* (subespècie II), *S. enterica* subespècie *arizonae* (subespècie IIIa), *S. enterica* subespècie *diarizonae* (subespècie IIIb), *S. enterica* subespècie *houtenae* (subespècie IV) i *S. enterica* subespècie *indica* (subespècie VI). Aquestes subespècies es diferencien per les seves característiques bioquímiques i relacions genètiques.^{4,5}

A les dues espècies citades s'inclouen múltiples serovarietats (serogrups i serotips). La serotipificació del gènere *Salmonella* es du a terme segons l'esquema de Kauffmann-White,^{4,6} en el qual s'identifiquen tres tipus d'antígens: l'antigen somàtic (O), l'antigen flagel·lar de primera fase (H1) i l'antigen flagel·lar de segona fase (H2), de manera que un serotip de *Salmonella* s'expressa pels antígens O:H1:H2. Alguns serotips tenen un quart antigen capsular (Vi).

Els antígens O es troben en el lipopolisacàrid (LPS), situat a la membrana externa de la paret cel·lular, i segons el tipus d'aquests antígens s'han definit serogrups anomenats de la A a la E. Els antígens flagel·lars són les subu-

nitats proteiques (flagel·lines) que formen els flagels. Una soca de *Salmonella* només expressa un tipus d'antigen flagel·lar (fase I o fase II) en un determinat moment. L'antigen capsular o de superfície Vi (de virulència), que es pot eliminar per ebullició, és present només en serotips molt invasius com és ara Typhi, Paratyphi-C i Dublin.

En la nomenclatura dels serotips s'utilitzen noms per a tots aquells que pertanyen a la subespècie I, que són els responsables d'aproximadament el 99 % de les infeccions per *Salmonella* en humans i en animals homeotèrmics. Els serotips de les subespècies II, IIIa, IIIb, IV i VI s'esmenten amb la seva fórmula antigènica i s'aïllen, normalment, d'animals poiquilotèrmics o a partir de l'ambient, i rarament es troben en humans. El nom de cada serotip generalment fa referència al lloc geogràfic del primer aïllament. S'ha d'escriure en rodona i en majúscules, i ha d'anar precedit del nom de l'espècie en cursiva, seguit de les paraules "serotip" o "serovar" en rodona, o de l'abreviatura "ser." (per exemple: *Salmonella enterica* serotip Typhimurium). Els serotips anomenats per la seva fórmula antigènica s'esmenten de la manera següent: subespècie a la qual pertanyen, antigen O seguit de dos punts, antigen H1 seguit de dos punts i antigen H2 si n'hi ha (per exemple: *Salmonella enterica* subsp. IV 45:g,Z₅₁: -).

Els diferents serotips de *Salmonella* es poden diferenciar en tres grups segons si estan adaptats o no a hostes o ambients específics. Els serotips adaptats a l'home: Typhi, Paratyphi A, B i C i Sendai tenen un reservori exclusivament humà i produeixen febres tifoides. Els serotips ubics, no adaptats a hostes específics, inclouen la majoria dels serotips i són els responsables de la majoria de les gastroenteritis humanes als països desenvolupats; en destaquen, com a més freqüents, els serotips Enteritidis i Typhimurium. Els serotips adaptats a animals poden produir infeccions extraintestinals en humans.

La gastroenteritis per salmonel·la pot tenir lloc en petits brots familiars, així com en restaurants, guarderies, residències de gent gran i hospitals, però entorn del 60 % - 80 % es tracta de casos esporàdics.

Reservori i font d'infecció

El reservori pot ésser animal i humà. El reservori animal és el més important i està constituït per aus i mamífers, fonamentalment pollastres, ànecs, porcs i bòvids. També els animals de companyia, com gossos, gats, hàms, ocells i tortugues, poden estar infectats. Alguns serovars de *Salmonella* tenen el reservori als animals de sang freda, com ara als amfibis i rèptils. La majoria d'infeccions salmonel·lòtiques dels animals tenen lloc sense signes clínics, i per això resulta difícil estimar-ne la incidència.

Als animals, l'hàbitat natural de les salmonel·les és el tub digestiu, però sovint les carns es contaminen durant el procés de sacrifici. També els aliments com els ous o la llet es poden contaminar amb aquests microorganismes.^{7,9}

Els ous al nostre medi són l'aliment més important de vehiculació de salmonel·les. La contaminació endògena dels ous per via transovàrica és coneguda en el cas dels serovars Pullorum i Gallinarum, serovarietats adaptades a les gallines, però és molt probable que també s'esdeingui amb altres serovars, fins i tot l'Enteritidis. La contaminació exògena a partir de la closca, quan conté restes de femta amb el microorganisme, és el mecanisme més freqüent pel qual es produeixen salmonel·losis d'origen alimentari en el nostre àmbit.⁸

Els factors que condicionen el manteniment del reservori animal de salmonel·les, que és el més important per a la persistència de la salmonel·losi humana, són: a) la tendència a agrupar els animals en grans unitats d'engreixament, cosa que facilita el contagi dels animals sans; b) el transport dels animals en grans grups i en poc espai, la qual cosa produeix situacions d'estrès que afavoreixen tant l'eliminació entèrica de bacteris com les bacterièmies amb la invasió tissular, i c) la creixent utilització de pinsos de processament industrial per a l'alimentació dels animals. Si aquests s'han obtingut a partir de carn, peix o ossos contaminats —cosa que és freqüent—, aquest és un mecanisme no solament per a la perpetuació, sinó per a la difusió de salmonel·les entre els animals.

Hi ha dues vies de transmissió del microorganisme: per ingesta d'aigua o d'aliments contaminats, de forma endògena o exògena, i per contacte de persona a persona especialment quan hi ha diarrea.¹⁰

Els aliments implicats de manera majoritària en la transmissió de la salmonel·losi són aquells amb contaminació endògena com els ous i els seus derivats —com ja s'ha comentat anteriorment—, i els productes carnis d'aus (portadors de *Salmonella* ser. Enteritidis, principalment) i de porcí i boví (portadors majoritàriament de *Salmonella* ser. Typhimurium). Amb una freqüència menor, gràcies a la pasteurització, es troba a la llet i els seus derivats, i als aliments que han estat en contacte amb aigua contaminada, com el peix, crustacis, mol·luscs, fruites i vegetals.^{11,12}

En la fase aguda de la malaltia s'excreten 10⁸ salmonel·les per gram de femta. El reservori humà de les salmonel·les gastroenterítiques (no tifoïdes) és transitori i està constituït pels portadors, és a dir, persones infectades que no presenten clínica. En aquests portadors la quantitat de microorganismes excretats és menor.^{13,14}

Pervivència als aliments

La majoria de serovars de salmonel·la s'inactiven a temperatures superiors a 60 °C durant 20 minuts, i resisteixen fins a tres mesos la congelació.

Taula 11. Supervivència de les salmonel·les en diferents localitzacions

Localització	Temps
Vegetals	4-20 dies
Llet	2-4 dies
Formatge	6-9 mesos
Farina de peix	2 anys
Xocolata	18 mesos
Mantega	105 dies
Aus congelades	13 mesos
Carn dessecada	77-154 dies
Ous	Alguns mesos
Ous en pols	13 anys
Aigua engorjada	115 dies
Aigua de mar	24-32 dies
Terra	28-280 dies
Sorra	12-16 dies

El pH òptim per a la seva pervivència i multiplicació se situa entre 6,5 i 7,5, encara que entre valors de 4,5 a 9 també es poden multiplicar.¹⁰

El temps de supervivència varia segons les condicions de temperatura i humitat relativa ambiental. Els valors elevats d'aquests paràmetres faciliten la seva multiplicació, però cal tenir en compte que les salmonel·les també poden sobreviure en aliments dessecats (taula 11).

Patogènia

L'afectació que produeixen les salmonel·les no tifoides està produïda per la invasió de cèl·lules epitelials intestinals al budell prim i el còlon mitjançant un procés d'endocitosi. En algunes ocasions, fins i tot en formes asimptomàtiques, els bacteris poden travessar la làmina pròpia i passar al torrent sanguini.¹⁵

Determinats serotips de *Salmonella* (Typhimurium, Dublin, Gallinarum-Pullorum, Enteritidis, Choleraesuis i Abortusovis) presenten plasmidis de virulència que permeten una multiplicació ràpida de les soques dintre de les cèl·lules de l'hoste, i resistir els seus mecanismes de defensa. També confereixen la possibilitat d'induir la lisi dels macròfags, una resposta inflamatòria anòmala i una enteritis. Aquests plasmidis també són portadors d'un operó que codifica una adhesina involucrada en la colonització del budell prim.¹⁶

Altres factors de virulència són una enterotoxina diarreagènica i una proteïna citotòxica termolàbil localitzada a la membrana externa del bacteri.¹⁰

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectant depèn de la virulència de la soca, que esta en relació amb el serotip; en alguns, la ingesta de només 15-20 cèl·lules del microorganisme pot ser suficient per produir la infecció, però en la majoria la dosi infectant se situa entre 10^5 i 10^7 cèl·lules.

Els nounats, els lactants, la gent gran i les persones immunodeprimides són més susceptibles a les infeccions per *Salmonella* que la població adulta sana.

La ingesta de dosis elevades de microorganismes, la malnutrició, la gastrectomia, la aclorhídria, l'anèmia ferropènica, els alcalins, els antiperistàtics i l'administració prèvia d'antibiòtics són factors afavoridors de la infecció.^{7,9}

Els aliments greixosos com el formatge, la xocolata o les hamburgueses faciliten la producció de la malaltia en dosis baixes. Això també s'esdevé quan el vehicle transmissor és l'aigua.

Períodes d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació de la malaltia varia entre 6 i 72 hores, i és més freqüent entre 12 i 36 hores.¹⁰

El període de transmissibilitat és molt variable. En l'ésser humà, al voltant del 50 % dels casos l'excreció de salmonelles després de la malaltia només dura dues setmanes, però es pot allargar fins a un mes o fins i tot alguns mesos. Al voltant de l'1 % de les persones adultes i el 5 % dels infants de menys de 5 anys excreten el microorganisme durant més d'un any com a portadors sans. El tractament antimicrobià pot allargar l'estat de portador.^{13,14}

Manifestacions clíniques

Són freqüents les infeccions asimptomàtiques i les formes lleus. Les manifestacions clíniques, quan apareixen, consisteixen en nàusees, vòmits, diarrea, dolor abdominal, febre, cefalea i postració. Pot aparèixer moc i sang a la femta.

Aquest quadre s'autolimita i va cedint en un període que va de 3 a 7 dies, i generalment es cura sense complicacions ni seqüeles.

Les formes septicèmiques simptomàtiques són poc freqüents, excepte quan es tracta d'infants petits, gent gran o persones amb malalties greus, com les assenyalades anteriorment, i poden produir infeccions metastàtiques extraintestinals com osteomielitis, meningitis, pneumònia, arteritis, endocarditis i d'altres. En les persones amb determinades parasitosis com esquistosomiosi o malària són més freqüents també les infeccions salmonel·lòtiques greus, amb sèpsia i metastasi.^{14,17-20}

Diagnòstic microbiològic

Es fa mitjançant coprocultiu. Si se sospita de septicèmia cal fer hemocultius. La femta s'ha de recollir en un recipient preferentment estèril o escrupolosament net, i s'ha de traslladar al més aviat possible (en 2-3 hores) al laboratori per poder-la processar immediatament.

Els cultius es fan en medis poc selectius —com l'agar MacConkey— o més selectius —com l'agar *Salmonella-Shigella* (SS), el xilosalicina desoxicolat (XLD) o l'agar Hektoen—, i entre 48 i 72 hores després de la sembra es poden obtenir resultats provisionals o definitius dels cultius. Més específics per al diagnòstic de *Salmonella* són els medis cromogènics com el CHROMagar i el COMPASS, en els quals les colònies de *Salmonella* es poden identificar fàcilment per la seva morfologia. L'ús d'aquests medis redueix la necessitat d'altres tests de confirmació i també el temps per fer la identificació definitiva. L'agar sulfit-bismut es pot fer servir per al diagnòstic de soques de *Salmonella* (1%) que fermentin la lactosa.

A més del cultiu directe de la femta en els medis assenyalats, hi ha medis d'enriquiment emprats per facilitar el diagnòstic dels casos que puguin tenir un nombre baix de microorganismes a la femta. Es tracta de brous a base de tetracionat i selenit.

La identificació de l'espècie es fa mitjançant proves metabòliques, i encara que la determinació del serogrup O reafirma la identificació metabòlica prèvia de *Salmonella*, és interessant estudiar el serotip (antigen O i H) i fins i tot determinar-ne el fagotip. Aquestes dades, juntament amb l'estudi de marcadors moleculars com els obtinguts per camp pulsat (PFGE) i d'altres, permeten fer un seguiment epidemiològic molt acurat d'un brot o d'una epidèmia per *Salmonella*.

Tractament

En totes les infeccions entèriques cal corregir la deshidratació i els trastorns del pH.

En les formes benignes de salmonel·losi no cal donar tractament antibiòtic. Aquest està indicat, però, en les formes greus i en les persones malaltes en risc de sèpsia indicades abans.

L'amoxicil·lina i el cotrimoxazole són fàrmacs apropiats, encara que és preferible administrar-los un cop conegudes les dades de l'antibiograma perquè les resistències no són excepcionals. L'amoxicil·lina amb àcid clavulànic, les fluoroquinolones (ofloxacina, norfloxacina i ciprofloxacina), així com la cefotaxima i la ceftriaxona conserven una bona activitat. No es recomana l'administració de fluoroquinolones quan es mostren actives *in vitro* si les soques són resistents a les quinolones no fluorades (taula 12).

Taula 12. Dosificació dels antimicrobians utilitzats per al tractament de les infeccions intestinals*

Antimicrobià	Via	Dosi
Ampicil·lina	P	Adults: 1-2 g / 4-6 h (IV) Infants: 150-200 mg / kg / dia en 4-6 dosis (IV)
Amoxicil·lina	O	Adults: 0,25-1g / 8 h Infants: 30-50 mg / kg / dia en 3 dosis
Amoxicil·lina amb àcid clavulànic	O	¹
Cefotaxima	P	Adults: 1-2 g / 6-8 h (IV) Infants: 100-200 mg / kg / dia en 4 dosis
Ceftriaxona	P	Adults: 1 g / 12-24 h (IM, IV) Infants: 50-100 mg / kg / dia (IM, IV)
Ciprofloxacina ²	O/P	Adults: 250-750 mg / 12 h (O) 200-400 mg / 8-12 h (IV) Infants: no indicada ³
Cotrimoxazole ⁴	O	Adults: 160 mg / 12 h Infants: 5 mg / kg / dia en 2 dosis
Eritromicina ⁵	O	Infants: 30-50 mg / kg / dia en 4 dosis
Gentamicina	P	Adults: 3-5 mg / kg / dia en 2-3 dosis Infants: 3-7 mg / kg / dia en 1-2-3 dosis
Norfloxacina	O	Adults: 400 mg / 12 h Infants: no indicada ³
Doxiciclina ⁶	O	Adults: 100 mg / 12 h Infants: no indicada

*Vegeu cada microorganisme específic.

O: via oral. P: via parenteral. IV: intravenós. IM: intramuscular.

1 L'administració d'amoxicil·lina amb àcid clavulànic es fa en les mateixes dosis d'amoxicil·lina.

2 L'ofloxacina és una alternativa adequada.

3 No es coneix la seguretat d'aquests medicaments en infants.

4 Dosificació d'acord amb el trimetoprim.

5 En adults es pot utilitzar la claritromicina a dosis de 500 mg / 12 h (O).

6 La doxiciclina és una alternativa adequada que s'administra en dosis de 100 mg / 12-24 h per via oral.

3.1.2 *Campylobacter*

Els campilobacteris són bacils gramnegatius petits, de 0,2 a 0,9 µm d'amplada i de 0,5 a 5 µm de llarg, amb forma espiril·lar, de S o de coma, mòbils, i que requereixen una atmosfera microaeròbica (5 % d'oxigen, 10 % de diòxid de carboni i 85 % de nitrogen) per a unes condicions de creixement òptimes. Dintre del gènere *Campylobacter* s'inclouen 16 espècies i 5 subespècies, de les quals *C. jejuni*, en aproximadament el 90 % dels casos, i *C. coli* amb molta menys freqüència poden causar malaltia intestinal a l'ésser humà. Durant els darrers anys l'enteritis per aquestes espècies s'ha revelat com una de les formes més freqüents d'enteritis bacteriana a la major part dels països desenvolupats.^{21,22}

La distribució estacional dels brots és una mica diferent als casos esporàdics: els primers són més freqüents a la primavera i la tardor, mentre que els segons es presenten sobretot a l'estiu.¹⁰

Reservori i font d'infecció

El reservori dels campilobacteris és el tub digestiu d'un gran nombre d'animals de sang calenta, on es troba com a comensal i també com a patogen entèric ocasional. Els més freqüents són les aus de corral (pollastres), els conills, els rosegadors, els bòvids, els porcs, els bous, els ornítics i els animals de companyia inclosos gats i gossos. Els vegetals contaminats, els crustacis i les mosques, així com l'aigua no clorada, poden ser vehicles d'infecció. A l'aigua *C. jejuni* pot romandre viable, però no es pot aïllar en medis de cultiu. El paper d'aquestes formes vives però no cultivables com a font d'infecció per als éssers humans encara no és prou clar.²³

La infecció per campilobacteris està considerada una zoonosi, i la majoria d'infeccions humanes són esporàdiques i s'originen per consum d'aliments d'origen animal, principalment la carn de pollastre poc cuita. En la transmissió dels campilobacteris té gran importància la contaminació encreuada dels aliments a la cuina.^{13,24-26}

Altres infeccions humanes són degudes al contacte amb animals de companyia infectats. La transmissió persona-persona o a través de manipuladors d'aliments infectats asimptomàtics no es dona sovint, ja que l'ésser humà és un hoste transitori dels campilobacteris i per tant una font poc important d'infecció.¹³

Els brots epidèmics són poc freqüents i en la majoria el vehicle de transmissió ha estat l'aigua contaminada per excrements animals o llet no tractada adequadament.

Pervivència als aliments

Campylobacter jejuni es multiplica entre 30 °C i 45 °C, per tant no ho fa als aliments mantinguts a temperatura ambient o en condicions de refrigeració. És un microorganisme fràgil, vulnerable a diferents factors físics i químics. És susceptible a les radiacions gamma i a una sèrie de desinfectants com l'hipoclorit sòdic, la iode-polivinilpirrolidona, el glutaraldehyd, el formaldehyd i l'etanol emprats en les concentracions d'ús normals. També és susceptible a temperatures elevades (temperatures adequades de cocció), a pH àcid de 2,3, a les tensions d'oxigen equivalents a l'atmosfèrica, i a la dessecació. En els aliments s'inactiven més ràpidament a temperatura ambient que a 4 °C. En alguns aliments i aigües el microorganisme pot sobreviure unes quantes setmanes a aquesta temperatura. La congelació redueix l'inòcul de campilobacteris en el pollastre contaminat,

però fins i tot després d'una congelació a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ es poden detectar petites quantitats d'aquests microorganismes.^{23,27}

Patogènia

El mecanisme enteropatogènic de *Campylobacter jejuni* no és conegut del tot, però hi ha tres factors importants que hi incideixen: la quantitat (dosi) del microorganisme que arriba al budell prim, la virulència de la soca infectant, i l'estat immunitari de l'hoste. Aquest microorganisme pot colonitzar el jejúnum, l'ili i el còlon amb característiques patogèniques semblants, i produeix una enteritis difusa, inflamatòria, hemorràgica, exsudativa i edematosa. L'existència en alguns pacients de bacterièmia, i la presència d'un infiltrat cel·lular en les biòpsies rectals de pacients amb colitis suggereix que la invasió tissular pot ser un mecanisme patogènic. També s'ha suggerit la possibilitat que mediadors inflamatoris puguin estar involucrats en la patogènia de la infecció. Són necessaris més estudis per establir si la producció de toxines com l'enterotoxina *cholera-like* i la toxina CDT (*cytolethal distending toxin*) desenvolupen un paper en la patogènia de la malaltia.^{10,28,29}

L'únic flagel de *Campylobacter jejuni* té gran importància com a factor de virulència del bacteri, ja que en facilita la colonització al tracte intestinal. Les fimbries són també importants en la virulència, així com l'activitat endotòxica del lipopolisacàrid de la membrana externa d'aquest microorganisme.²⁸

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectiva dels campilobacteris és relativament baixa. Menys de 1.000 organismes són capaços de produir la malaltia. Experiències amb voluntaris humans han demostrat que de 5×10^2 a 8×10^2 cèl·lules microbianes són suficients per instaurar la malaltia.³⁰ Per sota de 4×10^2 organismes la malaltia es desenvolupa infreqüentment; no obstant això, variacions de la susceptibilitat de l'hoste poden explicar aquestes diferències. Quan el vehicle de transmissió és un aliment que permet salvar la barrera àcida de l'estómac —com la llet, els aliments greixosos i d'altres— és possible que la infecció es produeixi amb dosis menors.¹⁰

Encara que tota la població pot patir una infecció per *Campylobacter jejuni* i *C. coli*, els infants de menys de 5 anys i les persones adultes joves (de 20 a 40 anys) presenten la més alta incidència de casos esporàdics.^{10,28}

Períodes d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és de 2 a 5 dies, però pot variar d'1 a 10 dies segons la dosi de bacteri ingerida.

La possibilitat de transmissió es prolonga durant tot el període actiu de la infecció, que dura generalment de 7 a 10 dies. Als països desenvolupats els pacients eliminen per la femta aquest microorganisme durant un període

ode de 2 a 3 setmanes, i l'excreció és molt infreqüent després de 3 mesos de la infecció. L'estat de la persona portadora probablement té poca importància, llevat dels nens i nenes petits i de les persones amb incontinència fecal, i rarament supera les 7 setmanes.^{11,13}

Manifestacions clíniques

L'enteritis aguda és la presentació més freqüent de la infecció per *C. jejuni*. Hi pot haver una fase prodròmica amb febre, mal de cap, miàlgia i malestar general 12 a 24 hores abans de començar la simptomatologia característica de diarrea, dolor abdominal i febre. La infecció sovint pot donar lloc a un quadre greu amb febre elevada (fins a 40 °C), dolor abdominal important i femta diarreica amb moc i sang, un quadre que pot persistir una setmana o més.^{31,32} Les reactivacions o recidives no són infreqüents (25 % dels casos). *C. jejuni* pot causar pseudoapendicitis i a vegades un quadre aïllat de febre o dolor abdominal agut. Les complicacions són relativament rares, però la infecció es pot associar amb artritis reactiva, síndrome hemolíticourèmica i excepcionalment, en persones amb malalties de base greus, es pot produir sèpsia. La colecistitis aguda, la colitis recurrent i la síndrome de Guillain-Barré són complicacions molt rares. En la literatura només s'han recollit 20 casos d'avortament sèptic induït per *Campylobacter jejuni*.²⁸

Diagnòstic microbiològic

Per a un diagnòstic microbiològic correcte és important que el transport de les mostres es faci de forma adequada i ràpida abans de dues hores i en mitjà de transport, atesa la facilitat amb què els campilobacteris s'inactiven a temperatura i atmosfera ambient.

L'examen microscòpic de la femta per observació directa en camp fosc o tenyida pel mètode de Gram permet un diagnòstic ràpid de presumpció en un 50 % dels casos. El cultiu de la femta es fa en medis selectius amb antibiòtics incubats a 42 °C en atmosfera microaeròfila. La morfologia de les colònies i la tinció de Gram són molt característics, per la qual cosa es poden tenir dades fiables 48 hores després. La identificació definitiva de *Campylobacter jejuni* es pot fer amb proves bioquímiques senzilles, com la hidròlisi de l'hipurat, que és positiva; no obstant això, la identificació de les soques que no hidrolitzen l'hipurat pot ser més difícil i poden caldre mètodes moleculars per a una identificació acurada.²¹

Un altre mètode per fer el diagnòstic de la infecció per campilobacteris consisteix a detectar l'antigen específic de superfície de *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* en mostres de femta i de cultius fecals realitzats en brou d'enriquiment. Per fer aquesta detecció hi ha tècniques comercials d'EIA en fase sòlida. Comparada amb el cultiu, és una prova menys

sensible però molt específica, fàcil de dur a terme i ràpida, ja que en dues hores es pot tenir el resultat; en canvi, l'inconvenient d'aquest mètode és que si el resultat és positiu i simultàniament no s'ha fet el cultiu no es disposa de la soca per fer estudis de sensibilitat antimicrobiana o epidemiològics.³³

Així mateix, hi ha una tècnica comercial de PCR a temps real que permet fer la detecció en femta de l'ADN de *C. jejuni*, *C. coli* i *C. lari*.

Els malalts amb sèpsia cal diagnosticar-los per hemocultiu.

Tractament

La major part de les infeccions entèriques per *C. jejuni* són autolimitades i requereixen únicament tractament simptomàtic. No obstant això, quan són greus (febre alta, femtes amb sang, nombroses deposicions) o es perllonguen més d'una setmana pot estar indicat fer un tractament amb antimicrobians. En aquest cas es recomana l'eritromicina. El tractament amb aquest antimicrobià redueix el temps d'eliminació bacteriana a les femtes. El tractament amb altres macròlids com la claritromicina o l'azitromicina pot ser també efectiu. Una altra alternativa efectiva de tractament és l'amoxicil·lina - àcid clavulànic. L'elevadíssima taxa de resistència de *C. jejuni* davant de fluoroquinolones (norfloxacina o ciprofloxacina) limita l'ús d'aquests antimicrobians.²⁸ (Les dosificacions es poden trobar a la taula 12.)

3.1.3 Shigella

El gènere *Shigella* pertany a la família *Enterobacteriaceae* i està format per bacils gramnegatius aerobis i anaerobis facultatius, immòbils agasògens en la fermentació dels carbohidrats i poc sacarolífics. Està constituït per quatre subgrups que històricament han estat considerats espècies. El subgrup A correspon a l'espècie *Shigella dysenteriae*, que ocasiona les formes més greus de shigel·losi i està centralitzada als països menys desenvolupats. Els altres subgrups són autòctons al nostre país. El subgrup B correspon a l'espècie *S. flexneri*, el subgrup C a *S. boydii*, i el subgrup D a *S. sonnei*; *S. sonnei* i *S. flexneri* són les espècies més freqüents al nostre medi. La shigel·losi és endèmica tant en països amb clima moderat com tropical.³⁴

Els subgrups A, B i C es poden subdividir a la vegada en diferents serotips segons diferents antígens somàtics. El subgrup A es subdivideix en 15 serotips. El subgrup B en 8 serotips (els serotips de l'1 al 5 es divideixen en 11 subserotips), i el subgrup C en 19 serotips, a diferència del subgrup D, que és homogeni des del punt de vista serològic (1 serotip).³⁴

Els brots de shigel·losi tenen lloc en condicions d'amuntegament i on la higiene personal és deficient, com a les presons, els orfenats, els hospitals mentals i les residències, i també com a conseqüència d'alteracions en la infraestructura sanitària del tractament i la purificació de l'aigua de consum.³⁵

La incidència més alta de shigel·losi té lloc els mesos més calorosos de l'any.

Reservori i font d'infecció

La font d'infecció més freqüent és la femta de les persones malaltes i de les portadores asimptomàtiques, i la via de transmissió és la fecal-oral. La infecció té lloc després de la ingestió d'aigua o aliments contaminats (amanides, vegetals crus, llet i productes làctics, i aus de corral). Els manipuladors d'aliments amb mala praxi també poden ser causa de contaminació dels aliments. En els infants és freqüent la transmissió per contacte directe, que és poc habitual entre adults que observen les normes higièniques adequades.

Les mosques poden ser vehicle transmissor del microorganisme des de les femtes fins als aliments mal protegits. També hi pot haver transmissió per via sexual, que és més freqüent en persones homosexuals. Les shigel·les són agents que apareixen sovint a la diarrea del viatger.^{11,13}

Pervivència en els aliments

El pH àcid és un factor bactericida important. Estudis realitzats en suc de cítrics, begudes carbòniques i vi revelen la pervivència de *Shigella* després d'1 a 6 dies. En aliments amb pH neutre que s'han conservat congelats o a 6 °C, el microorganisme pot ser aïllat després de 100 dies. Les shigel·les poden sobreviure en un ventall de temperatura ampli, des de -20 °C fins a la temperatura ambient; el fred i la congelació, però, afavoreixen la seva supervivència.^{35,36}

En aliments com amanides amb maionesa i formatges, la shigel·la pot sobreviure entre 13 i 92 dies, i aquest període pot ser més llarg quan es localitza en superfícies seques i en aliments congelats com ara gelats, gambetes i carn picada de porc.

El creixement d'aquest microorganisme s'inhibeix en presència de ClNa a concentracions d'entre el 3,8 % i el 5,2 %, i a pH d'entre 4,8 i 5,0. També l'inhibeix el NO₂Na a concentracions d'entre 300 i 700 mg/litre, i en presència d'hipoclorit sòdic (ClONa) a una concentració de 0,5-1,5 mg/litre d'aigua a 4 °C. Les shigel·les també són sensibles a les radiacions ionitzants.³⁵

Patogènia

Les shigel·les envaeixen la mucosa del còlon penetrant les cèl·lules mitjançant la fagocitosi. Al citoplasma el bacteri es multiplica i fa servir diferents proteïnes del citoesquelet de la cèl·lula hoste, principalment l'actina, per generar una protuberància de la superfície cel·lular i prendre contacte amb la cèl·lula adjacent. Es propaguen, així, d'una cèl·lula a l'altra de la mucosa sense necessitat de sortir a la llum intestinal. Encara que la inva-

sió és limitada i que no arriba a la submucosa, la necrosi de la mucosa és important, així com la resposta inflamatòria, amb hemorràgia, exsudació proteica, moc i abundants leucòcits a la femta. Si les úlceres són grans, l'hemorràgia és macroscòpica. La sang i el moc són característics de la síndrome disenterica pròpia d'aquesta malaltia.^{37,38}

Els gens implicats en la invasivitat es localitzen en un gran plàsmid de 140 MDa i codifiquen unes proteïnes de membrana externa que són secreta-des pel sistema de secreció de proteïnes extracel·lulars de tipus III (SST3) que indueixen a l'endocitosi.³⁷

L'expressió dels gens de virulència de les shigel·les és regulada per la temperatura de creixement. Les soques virulentes d'aquest microorganisme són invasores quan creixen a 37 °C, i no invasores quan ho fan a 30 °C. Aquesta estratègia assegura que el microorganisme conservi la capacitat per des-envolupar els factors de virulència només quan el bacteri es troba a l'in-terior de l'hoste.¹⁰

Aquest microorganisme sembla que és capaç de produir dues enterotoxi-nes, la ShET1 i la ShET2. La primera està codificada en el nivell cromosò-mic i està produïda fonamentalment per *S. flexneri*, mentre que la ShET2 és plasmídica i es detecta en el 80 % dels quatre subgrups de *Shigella*.³⁹

S. dysenteriae produeix una toxina termolàbil anomenada toxina de Shiga — molt semblant a la verotoxina d'*E. coli* O157:H7— que està implicada en la patogènesi de la diarrea produïda per aquest bacteri. Les soques que són inva-sores i produeixen la toxina donen lloc als casos més greus de la malaltia.¹⁰

L'aparició d'hiperpirèxia i convulsions en infants amb shigel·losi ha deter-minat que alguns autors suggerissin la participació d'una neurotoxina en la patogènesi de la malaltia.³⁷

Dosi infectant i població susceptible

La virulència de les shigel·les és molt alta; n'hi ha prou amb un nombre escàs de microorganismes, entre 10 i 100, per desencadenar la malaltia,^{36,37} la qual cosa explica la facilitat del contagi directe i l'aparició freqüent de casos secundaris per contacte interpersonal en brots vehiculats per aigua i aliments.

Totes les persones són susceptibles de patir aquesta infecció, però en els nens i nenes d'entre 6 mesos i 6 anys, en la gent gran, en les persones malaltes amb sida i en els homes homosexuals, la shigel·losi és més fre-qüent i greu. La freqüència de la malaltia és menor en els lactants ali-mentats amb llet materna.⁴⁰

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació acostuma a oscil·lar entre 12 i 96 hores; no obstant això, la simptomatologia acostuma a aparèixer al voltant del tercer dia. En relació amb *S. dysenteriae* aquest període pot ser superior a una setmana.

L'excreció de shigel·les s'estén des del començament de la fase aguda fins a 4 setmanes després de la malaltia. Hi pot haver portadors asimptomàtics, però aquest estat rarament té una durada llarga. Un tractament antimicrobià adequat el redueix a pocs dies.^{13,41}

Manifestacions clíniques

La infecció per shigel·la dóna lloc al quadre clínic típic de disenteria amb dolor abdominal, diarrea amb moc, sang i leucòcits que acostuma a anar precedit per diarrea aquosa profusa i febre (aquestes primeres manifestacions es correlacionen amb la localització de la infecció al budell prim). S'ha d'assenyalar, però, que la clínica de les enteritis invasores per salmonel·la, campilobacteris, shigel·la, *E. coli* enteroinvasor i yersínia és poc diferenciada.

En persones sanes ben nodrides la malaltia és autolimitada i es resol en una setmana. En els nens i nenes pot ser més greu i les complicacions, encara que rares, consisteixen en deshidratació greu i convulsions febrils. En pacients amb antígen d'histocompatibilitat HLA-B27 pot aparèixer la síndrome de Reiter. Les soques bacterianes productores de toxina de Shiga poden donar lloc a una síndrome hemolíticourèmica com a complicació de la malaltia.

La sèpsia i altres localitzacions extraintestinals són absolutament excepcionals en aquesta malaltia.³⁷

Diagnòstic microbiològic

Cal tenir en compte la labilitat de les shigel·les quan abandonen el tub digestiu, a causa de l'acidificació progressiva de la femta. És per això que aquesta s'ha de cultivar ràpidament o s'ha de mantenir en mitjans de transport. L'examen directe d'un frotis permet observar la presència de nombrosos leucòcits polinuclears que suggereixen l'existència d'una infecció enteroinvasiva, però aquest fet és comú en altres infeccions causades per microorganismes invasors, en particular yersínies, amebes i salmonel·les.

El diagnòstic etiològic es fa per cultiu, sembrant la femta en medis selectius. 72 hores després es pot tenir la identificació definitiva del microorganisme. Es disposa d'antisèrums comercials per a la determinació dels antígens per detectar els subgrups, serotips i subserotips.³⁴

Tractament

La malaltia és autolimitada, però el tractament està indicat per a infants i pacients amb formes greus. Redueix la duració dels símptomes i l'excreció de shigel·les.

L'ampicil·lina i el cotrimoxazole són útils per al tractament, però hi ha moltes soques resistents, per la qual cosa convé fer-los servir després de conèi-

xer la sensibilitat de la soca aïllada. Les fluoroquinolones són també eficaçes i més actives, i es poden emprar com a tractament empíric, excepte en infants pel potencial efecte sobre el cartílag de creixement. El tractament amb cefalosporines de tercera generació és comú en les shigel·losis pediàtriques. L'azitromicina s'ha fet servir per al tractament en adults de soques multiresistents.^{42,43} (taula 12).

3.1.4 *Escherichia coli*

El gènere *Escherichia* pertany a la família de les enterobacteriàcies i està compost per cinc espècies, que són *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* i *Escherichia vulneris*. L'espècie tipus és *E. coli*. Són bacils gramnegatius mòbils mitjançant flagels peritrics o immòbils. Fermenten la glucosa i normalment produeixen gas.³⁴

De les cinc espècies, *E. coli* és la que forma part de la flora microbiana intestinal normal, tot i que algunes soques poden produir infeccions intestinals o extraintestinals en pacients immunocompetents o immunodeprimits. Les infeccions del tracte urinari, les bacterièmies, meningitis i la malaltia diarreica en són els síndromes més freqüents i estan produïts per un nombre limitat de clons patogènics d'*E. coli*.³⁴

Les soques d'*E. coli* patògenes per als éssers humans no acostumen a produir infeccions en animals, i viceversa. En canvi, s'ha comprovat que els animals poden ser reservori d'*E. coli* enteropatògens per a les persones.

L'any 1947 Kauffmann va proposar una forma de diferenciar les soques d'*E. coli* mitjançant la determinació dels antígens superficials O (somàtics), K (capsulars) i H (flagel·lars). L'antigen O és un polisacàrid que forma part del lipopolisacàrid (LPS), present a la membrana externa de la paret cel·lular. L'antigen K es correspon amb el polisacàrid capsular que envolta la paret cel·lular i els antígens flagel·lars H són proteïcs. Aquesta classificació serològica va resultar molt útil en els estudis epidemiològics i de patogènesi d'*E. coli* ja que van facilitar la diferenciació entre soques virulentes i soques innòcues.

Les soques d'*E. coli* productores de malaltia diarreica es classifiquen segons diferents grups o categories: *E. coli* enteropatogènica (ECEP), *E. coli* enterotoxigènica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* verotoxigènica (ECVT) o enterohemorràgica (ECEH), *E. coli* enteroagregativa (ECEA) i *E. coli* amb adherència difusa (ECAD). Encara que totes les soques s'haurien d'incloure sota la denominació genèrica de ECEP, aquesta es reserva per al primer grup de soques que es van detectar com a enteropatogèniques, com s'acaba de assenyalar. Als grups descoberts posteriorment se'ls va atribuir altres noms. Les soques d'aquests grups presenten mecanismes de patogenicitat diferents, serotips específics i produeixen síndromes clíniques diferenciades.

Escherichia coli enteropatogènica clàssica (ECEP)

Fou el primer grup d'*E. coli* de patogènia provada segons dades epidemiològiques. La distribució d'ECEP és mundial. Prèviament s'associava a brots hospitalaris de diarrea en nounats i brots comunitaris a guarderies, però actualment és poc freqüent en països desenvolupats i continua sent la principal causa de diarrea greu en criatures petites als països on les pràctiques sanitàries són deficientes.

A la taula 13 es presenten els serotips més freqüents associats a patologia humana.³⁴

Reservori i font d'infecció

El reservori d'ECEP és l'ésser humà i es troba al tub digestiu de persones simptomàtiques o asimptomàtiques. La transmissió té lloc a través d'aigua i aliments contaminats. Aquesta via de transmissió ha originat escassos brots de gastroenteritis en persones adultes, i els aliments que hi han estat implicats més sovint són la carn de vaca i pollastre poc cuites; ara bé, qualsevol aliment exposat a la contaminació fecal pot ser molt sospitós. La transmissió persona-persona possiblement és més important en infants.¹¹

Pervivència als aliments

És semblant a la d'*E. coli* verotoxigènica.

Patogènia

Per causar la malaltia el microorganisme s'ha d'haver establert al budell prim. Per fer-ho s'adhereix a la superfície de la mucosa i produeix la lesió d'adhesió i esborrament de les microvellositats (lesió en pedestal), força característica.

Les ECEP tenen una fimbria tipus IV anomenada BFP (*bundle-forming pilus*) codificada pel gen *bfpA*, localitzat al plàsmid EAF (*EPEC adherence factor*), que és responsable de l'adhesió inicial del bacteri a l'enteròcit i és un factor de virulència. Les soques que no tenen aquest factor són menys patogèniques que les soques típiques.

Hi ha una sèrie de gens (*ea*, *tir*, *esp* i *sep*) que codifiquen factors implicats en la lesió intestinal d'adhesió i esborrament, i en la condensació de l'actina del citoesquelet i l'aparició de la lesió en pedestal en forma de copa, sobre la qual es localitza el bacteri. Tots aquests gens s'agrupen en una illa de patogenicitat coneguda com LEE (*locus of enterocyte effacement*), constituïda per 41 gens, amb 35.624 pb i un contingut G+C del 38,3 %.

El gen *ea* és el principal implicat en aquesta lesió, i codifica la intimina (proteïna de la membrana externa de la paret cel·lular), que actua com a adhesina fixant íntimament el bacteri a l'enteròcit.

Taula 13. Serotips més freqüents d'*Escherichia coli*

ECET	ECEP	ECEI	ECVT	
06:NM	055:NM	028:NM	01:NM	0111:H8
06:H16	055:H6	029:NM	02:H6	0113:H21
08:H9	055:H7	0112:NM	02:H7	0118:H2
015:H11	086:NM	0124:NM	05:NM	0118:H12
020:NM	086:H34	0124:H7	09:NM	0118:H16
025:NM	0111:NM	0124:H30	014:NM	0121:H19
025:H42	0111:H2	0136:NM	022:H5	0128:NM
027:NM	0111:H12	0143:NM	022:H8	0128:H2
027:H7	0111:H21	0144:NM	026:NM	0128:H45
027:H20	0114:NM	0152:NM	026:H11	0137:H41
049:NM	0114:H2	0164:NM	045:H2	0145:NM
063:H12	0119:H6	0167:NM	048:H21	0153:H2
078:H11	0125:H21	ONT:NM	050:H7	0153:H25
078:H12	0126:NM		055:H7	0157:NM
0128:H7	0126:H27		079:H7	0157:H7
0148:H28	0127:NM		083:H1	0163:H19
0153:H45	0127:H6		091:NM	0165:NM
0159:NM	0127:H9		091:H10	0165:H25
0159:H4	0127:H21		091:H21	0172:NM
0159:H20	0128:H2		0103:H2	ONT:NM
0167:H5	0128:H12		0104:NM	
0169:H41	0142:H6		0104:H21	
	0157:H45		0111:NM	
			0111:H2	

ECET: *E. coli* enterotoxigènica.

ECEP: *E. coli* enteropatogènica.

ECEI: *E. coli* enteroinvasiva.

ECVT: *E. coli* verotoxigènica.

NM: no mòbil. NT: no serotipable.

El gen *tir* codifica uns receptors de naturalesa proteica que són inoculats a l'enteròcit i transportats fins a la seva membrana, on s'uneixen les intimitines. Aquests receptors són transportats fins a la membrana pel sistema de secreció de proteïnes de tipus III (SST3).^{44,45}

El gen *esp* codifica unes proteïnes (EspA, EspB, EspD) que també són secretades pel SST3, i encara que se'n desconeix la funció concreta, la seva secreció és fonamental per a la formació de la lesió d'adhesió i esborrament.

El mecanisme pel qual les soques d'ECEP produeixen diarrea no és del tot conegut; ara bé, hi ha l'evidència que hi poden estar implicats diversos mecanismes com la pèrdua de les microvellositats, les unions intercel·lulars i l'increment de la secreció de fluids.⁴⁶

Dosi infectant i població susceptible

L'ECEP és altament infecció per a les criatures, i la dosi infectant és presumiblement molt baixa. En els pocs casos documentats de malaltia en persones adultes la dosi és de 10^6 - 10^{10} cèl·lules bacterianes.⁴⁷

Els brots d'ECEP són més freqüents en infants menors de 6 mesos i especialment en aquells alimentats amb fórmula làctia. Aquest agent es detecta a la diarrea del viatger.¹¹

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació de la malaltia natural és variable. En persones voluntàries ha oscil·lat entre 9 i 12 hores.^{13,48}

El període de transmissibilitat es limita a la duració de l'excreció d'ECEP, que pot ser prolongat en portadors sans.¹³

Manifestacions clíniques

La simptomatologia correspon a una diarrea aquosa greu amb moc. També es poden presentar vòmits, nàusees, dolor abdominal i febre, i en general és més greu en infants, en els quals pot ser persistent (superior a 14 dies), de manera que pot provocar pèrdua de pes, malnutrició i mort.⁴⁶

Diagnòstic microbiològic

El cultiu de les femtes es fa en medis selectius i diferenciats per enterobacteris. Les colònies d'*E. coli* aïllades s'han d'aglutinar amb sèrums preparats contra serotips enteropatògens. Aquest mètode, però, és molt inespecífic.

El diagnòstic de les infeccions per ECEP es fa mitjançant la detecció dels gens que codifiquen factors de virulència (gens *eae* i *bfpA*) i del plàsmid EAF mitjançant tècniques de PCR.

Alternativament, el cultiu cel·lular per detectar l'adherència cel·lular és altament específic per al diagnòstic d'ECEP, però extraordinàriament laboriós.

Tractament

El tractament va fonamentalment dirigit a corregir la deshidratació i altres possibles trastorns hidroelectrolítics i de pH. Es requereix la via parenteral en els casos d'infants amb vòmits importants o deshidratació greu.

Els casos lleus no necessiten tractament antimicrobià, tot i que els antibiòtics escurcen la duració de la malaltia en els malalts amb formes greus.⁴⁹

Escherichia coli enteroinvasiva (ECEI)

Les soques d'ECEI presenten un mecanisme de patogenicitat idèntic al de les shigel·les, i produeixen un quadre clínic no distingible de la disenteria shigel·lar. De fet, des del punt de vista genètic les shigel·les pertanyen a l'espècie *E. coli*, per tant, juntament amb les soques d'*E. coli* enteroinvasiva formen un clon enteroinvasiu dintre l'espècie *E. coli*.

Reservori i font d'infecció

Aquestes soques són endèmiques als països subdesenvolupats, on produeixen de l'1 % al 5 % dels episodis de diarrea, i són poc freqüents al món industrialitzat, on rarament es presenten com a brots epidèmics d'origen hídric o alimentari.^{13,50}

El reservori és humà, atesa la semblança amb les shigel·les, i malgrat l'escassa evidència disponible se suposa que la transmissió té lloc mitjançant aliments contaminats durant la seva fabricació o mentre són manipulats directament per persones malaltes, o a través d'aigua contaminada. Es descobreixen quins aliments poden albergar aquestes soques enteroinvasives, però alguns brots s'han associat a hamburgueses de carn, formatges i llet no pasteuritzada. També es pot produir la transmissió persona-persona.^{11,13}

A la taula 13 es presenten els serotips més freqüents associats a malaltia humana.³⁴

Pervivència als aliments

És semblant a la d'*E. coli* verotoxigènica.

Patogènia

Les soques d'ECEI tenen un mecanisme patogènic idèntic al de les shigel·les: envaeixen i es multipliquen als enteròcits de l'ili distal i el còlon, on provoquen la mort cel·lular. La mucosa intestinal presenta ulceracions que poden sangnar, es produeix una intensa resposta inflamatòria i s'observen leucòcits a la femta.⁴⁵

Com en les shigel·les, els gens implicats en la capacitat invasora d'ECEI es localitzen en un gran plàsmid de 140 Mda, anomenat plàsmid pl_{inv}, i codifiquen la producció d'unes proteïnes de membrana externa que són secretades pel sistema de secreció tipus III (SST3) a la superfície o directament a l'interior de la cèl·lula de l'hoste i indueixen a l'apòtesi.^{46,51}

Dosi infectant i població susceptible

Es creu que la dosi infectant d'ECEI, com en la shigel·la, és tan baixa com de 10 organismes.¹¹

Tant els infants com les persones adultes són susceptibles de patir aquesta infecció.

Tot i que no és freqüent, s'aïlla en la diarrea del viatger.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació pot oscil·lar entre 10 i 72 hores, segons observacions en persones voluntàries i brots.¹¹⁻¹³

El període de transmissibilitat s'allarga mentre dura l'excreció d'ECEI. No hi ha dades sobre el temps d'excreció un cop passada la fase simptomàtica.¹³

Manifestacions clíniques

Com en la shigel·losi, la infecció per ECEI es presenta com una diarrea aquosa que pot evolucionar a un quadre disentèric caracteritzat per dolors abdominals intensos, febre i tenesme. La diarrea de poc volum pot anar acompanyada de moc i sang. Una complicació associada a la infecció, especialment en casos pediàtrics, és la síndrome hemolíticourèmica (SHU).⁴⁶

Diagnòstic microbiològic

El transport de les mostres i el cultiu es fan com en el cas de l'ECEP. La identificació presumptiva d'una soca d'*E. coli* com a enteroinvasiva es fa demostrant per aglutinació la seva pertinença a un dels serogrupos enteroinvasors.³⁴

La identificació definitiva depèn de la demostració de la seva capacitat invasora mitjançant la prova de Sereny, que permet evidenciar la producció d'una queratoconjuntivitis greu a l'ull del cobai quan s'inocula la soca patògena o la invasió de la línia cel·lular HeLa.

Un procediment més fàcil es basa en la detecció dels gens *ial* i *ipaH* per tècniques de PCR. Aquests dos gens codifiquen factors que promouen la invasió.⁵²

Tractament

És el mateix que el de la shigel·losi.

Escherichia coli enterotoxigènica (ECET)

Les enteritis per ECET són freqüents en països amb condicions higièniques desfavorables, en especial a zones on el còlera és endèmic, de manera que aquest agent etiològic es presenta en el 10 % al 40 % de les gastroenteritis infantils.

Reservori i font d'infecció

L'home és el reservori d'ECET, ja que aquestes soques són espècie-específiques.

Les aigües contaminades amb matèria fecal són la principal font d'infecció, i secundàriament els aliments; en aquest cas la contaminació inicial rarament s'associa a la matèria primera, sinó que es produeix pel contacte amb aigua contaminada o durant la manipulació per part d'una persona malalta.

En els brots que afecten lactants particularment pot tenir importància la contaminació dels biberons.

Es creu que la transmissió de la malaltia persona a persona és rara.

És una causa freqüent de “diarrea de viatger”⁵³ en aquelles persones que visiten països endèmics.

A la taula 13 es presenten els serotips que més sovint estan associats a la malaltia humana.³⁴ El serotip O169:H41 s’ha detectat recentment com el causant més freqüent de brots als Estats Units.

Pervivència als aliments

És semblant a la d’*E. coli* verotoxigènica.

Patogènia

La primera etapa de la patogènia d’ECET és l’adherència a l’enteròcit humà del budell prim mitjançant factors antigènics de colonització (CFA/I, II, III i IV) constituïts per fímbrïes, que segueix de l’elaboració i eliminació de dues enterotoxines, una de termolàbil (LT) i una altra de termoestable (STa), molt semblants en estructura i mecanisme d’acció a la toxina del còlera. Provoquen pèrdua de líquid i electròlits per alteració funcional dels enteròcits sense lesionar-los. Les toxines i els CFA es troben codificats en plasmidis.^{45,54}

Dosi infectant i població susceptible

Les dosis infectives deduïdes d’experiències en voluntaris oscil·len entre 10^8 i 10^9 microorganismes. En els infants són necessaris menys bacteris perquè es produeixi la infecció.^{11,47}

Els nens i nenes de menys de quatre anys i els viatgers a països endèmics són la població més susceptible a la malaltia (diarrea del viatger).⁵³

Període d’incubació i transmissibilitat

El període d’incubació oscil·la entre 24 i 72 hores. En canvi, s’han observat en voluntaris i brots amb períodes més breus, d’entre 8 i 12 hores. El període de transmissibilitat es correspon amb la durada de l’excreció d’ECET, que pot ser prolongada.¹³

Als països amb condicions higièniques deficitàries la freqüència de persones portadores asimptomàtiques en infants pot arribar fins al 20 %.

Manifestacions clíniques

La malaltia cursa amb diarrea aquosa, nàusees i dolor abdominal. No hi ha febre o és baixa, i els vòmits no sovintegen. A les femtes no es troba sang, moc ni pus. En els casos greus el quadre pot durar fins a tres setmanes, i no es distingeix del còlera, amb deposicions en “aigua d’arròs”. Els casos de diarrea del viatger generalment presenten una simptomato-

logia benigna que desapareix dos o tres dies després. Hi ha evidències de l'aparició d'immunitat adquirida a la malaltia.⁴⁶

Diagnòstic microbiològic

La correlació entre els serotips i la capacitat de produir enterotoxines permet una detecció presumptiva d'ECET a la femta, que s'aconsegueix en 2 o 3 dies.³⁴ Cal, però, demostrar per mètodes immunològics o biològics la capacitat de les soques aïllades per a produir toxina, LT, ST, o ambdues simultàniament.

Hi ha mètodes comercials d'immunoassaig per detectar les enterotoxines produïdes per l'ECET a partir del sobrenedant de cultius bacterians. Hi ha una enzimoimmunoanàlisi (EIA) competitiva per a la detecció exclusivament de la toxina ST i un test d'aglutinació passiva amb làtex (RPLA) que detecta tant la toxina LT com la del còlera, que són molt semblants des del punt de vista dels antígens. L'efectivitat del RPLA pot ser optimitzada mitjançant la utilització d'un medi de cultiu (medi de Biken) adequat per la producció de la toxina LT.³⁴

Les tècniques de PCR per detectar els gens que codifiquen les toxines LT i ST són bastant sensibles i específiques quan s'utilitzen directament en femta o en colònies de soques aïllades.

Tractament

És el propi de la deshidratació, si n'hi ha, mitjançant una rehidratació oral o parenteral. La combinació terapèutica amb una fluoroquinolona i un anti-peristàltic pot millorar els símptomes i escurçar l'evolució de la malaltia. Aquesta medicació és recomanable, especialment, en els viatgers que desenvolupen una diarrea durant un viatge a zones endèmiques.⁵⁵

Escherichia coli enteroagregativa (ECEA)

E. coli EA, des del principi dels anys vuitanta, quan es va començar a detectar, és un important agent emergent de diarrea en nens i nenes de països amb condicions higièniques desfavorables, on és capaç de ser la causa més comuna de diarrea aguda o persistent. Casos documentats a Alemanya i el Regne Unit suggereixen que ECEA pot ser responsable d'una petita proporció de casos d'enteritis aguda en països desenvolupats. Als Estats Units s'ha associat a diarrea persistent en malalts amb infecció per VIH. Recentment s'ha considerat, també, una causa de diarrea del viatger.¹³

Les característiques epidemiològiques tals com el reservori, la font d'infecció, la transmissibilitat i la pervivència als aliments són poc conegudes.

Patogènia

La patogènia d'ECEA no és prou coneguda. Aquestes soques malmeten la mucosa intestinal amb pèrdua dels microvil·lis i mort cel·lular. Té lloc una adherència inicial a la mucosa per mitjà de les fimbries d'adherència agre-

gativa (AAF/I i AAF/II), codificades per uns gens que es localitzen en un plasmidi. Les soques d'ECEA no s'adhereixen uniformement a la superfície de la mucosa intestinal, sinó que es localitzen en petits agregats (patró agregatiu d'adherència). Posteriorment té lloc la producció de moc que forma un biofilm gruixut. Aquesta coberta podria promoure la colonització persistent i una mala absorció de nutrients. Una tercera fase podria estar relacionada amb l'elaboració de toxines o la inflamació que dona com a resultat la lesió de la mucosa, la secreció intestinal i l'aparició de leucòcits i lactoferrina a les femtes dels pacients.^{45,46}

Dosi infectant

Les soques d'ECEA presenten una heterogenicitat considerable. Una dosi de 10¹⁰ organismes d'una soca d'ECEA amb uns determinats factors de virulència (fimbria AAF/II i toxines EAST1 i Pet) van produir diarrea en 4 de les 5 persones voluntàries adultes, en canvi, tres soques més, que expressaven AAF/I i una d'elles secretava a més EAST1, no van produir cap símptoma.⁴⁵

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és aproximadament de 20 a 48 hores.¹³

El període de transmissibilitat es limita a la duració de l'excreció d'ECEA, que pot ser perllongat (fins a dues setmanes). Les soques d'ECEA s'aïllen sovint de persones asimptomàtiques.

Manifestacions clíniques

La simptomatologia clínica varia des d'una síndrome aguda de diarrea aquosa amb moc, fins a formes més perllongades, de manera que es produeixen dolors còlics abdominals i a vegades disenteria.⁴⁶

Diagnòstic microbiològic

Es realitza mitjançant l'aïllament a partir de mostres de femta; la identificació es basa en l'establiment del serotip i la demostració del patró d'adherència agregativa en cèl·lules Hep-2.

La tècnica de PCR utilitzant encebats derivats de la seqüència d'un fragment de sonda ADN demostra una sensibilitat i especificitat acceptables en la detecció de soques d'ECEA.⁵⁶

Tractament

Els individus infectats pel VIH i els viatgers es poden beneficiar del tractament de la infecció per ECEA amb fluoroquinolones.

Escherichia coli amb adherència difusa (ECAD)

Es refereix a algunes soques d'*E. coli* que s'adhereixen *in vitro* a les cèl·lules Hep-2 amb un patró difús. Diferents estudis han implicat *E. coli* AD com a agent causal de diarrea, mentre que d'altres no han trobat una diferència

significativa entre els aïllaments de soques d'ECAD de pacients amb diarrea respecte als seus controls asimptomàtics.

E. coli AD s'associa a diarrea en nens i nenes més grans de 18 mesos de països amb condicions higièniques deficitàries. El risc relatiu de l'associació entre ECAD i diarrea augmenta amb l'edat de l'infant d'1 a 5 anys.³⁴

Les característiques epidemiològiques, com el reservori, la font d'infecció, la dosi infectant, el període d'incubació, la transmissibilitat i la pervivència als aliments, són poc conegudes.

Patogènia

Es coneixen poc les característiques patogèniques d'ECAD. S'ha descrit en aquest tipus d'*E. coli* una fímbria superficial anomenada F1845 i una proteïna de membrana externa de 100 Kda anomenada AIDA-I. Sembla que aquestes soques no produeixen toxines.^{45,46}

Manifestacions clíniques

Hi ha pocs estudis respecte a la infecció per ECAD, per tant no hi ha una descripció adequada de la síndrome clínica. La majoria dels pacients infectats per ECAD van tenir una diarrea líquida, sense sang ni presència de leucòcits a la femta.⁴⁵

Diagnòstic microbiològic

Com en el cas de les soques d'ECEA, la seva detecció fenotípica es pot fer *in vitro* per l'adherència del bacteri a cèl·lules Hep-2 o HeLa.

Tractament

És el propi de la deshidratació, si n'hi ha, mitjançant una rehidratació oral o parenteral. La combinació terapèutica amb una fluoroquinolona i un anti-peristàltic pot millorar els símptomes i escurçar l'evolució de la malaltia.

Escherichia coli enterohemorràgica (ECEH)

Algunes soques d'*E. coli* produeixen toxines semblants a la toxina Shiga de *S. dysenteriae* 1, Stx1 i/o Stx2, també anomenades verotoxines VT1 i VT2. Aquestes soques són anomenades verotoxigèniques.

A la taula 13 es presenten els serotips més freqüents associats amb malaltia humana.³⁴

Algunes d'aquestes soques tenen altres factors de virulència i causen una enteritis hemorràgica afebril (colitis hemorràgica). Aquest subgrup de soques s'anomenen *E. coli* enterohemorràgica (ECEH).

La colitis hemorràgica (CH) per *E. coli* es va reconèixer per primera vegada l'any 1982 als EUA en dos brots que van afectar 47 persones. Les soques d'*E. coli* causants de la malaltia pertanyien al serotip O157:H7, molt rarament aïllat fins aleshores i que es diferenciava de la majoria de les soques d'*E. coli* en el fet que no fermentava el sorbitol i era betaglucuronidasa negatiu.^{10,57}

Encara que l'etiologia de la majoria de brots i casos esporàdics de CH es restringeix a les soques del serotip O157:H7, ECVT causants d'infeccions en éssers humans pertanyen a un amplí ventall de serotips (377 combinacions O:H diferents; no obstant això, alguns serogrupos com O26, O103, O111 i O145 són els que adquireixen més importància clínica després del serotip O157:H7.⁵⁸

Algunes soques d'*E. coli* enterohemorràgica O157 són immòbils (O157:H⁻), i un clon (clon alemany) és sorbitol positiu i betaglucuronidasa positiva.

L'ECVT O157 ha provocat els últims anys un gran nombre de brots, la majoria dels quals han tingut lloc als països anglosaxons i el Japó. A l'Europa continental i Austràlia els casos esporàdics d'infeccions per ECVT no O157 són molt més freqüents que els deguts a ECVT O157.

Els brots i els casos esporàdics són més freqüents durant els mesos càlids de l'any, i això pot estar relacionat amb l'augment, també en aquests mesos, de la prevalença del patogen al vaquí.

Reservori i font d'infecció

El bestiar boví i oví constitueix el principal reservori d'aquests tipus de microorganismes, i és probable que altres animals com cabres, cérvols, gossos, cavalls, porcs i gats també en siguin.

La principal via de transmissió és per ingesta d'aliments contaminats amb femtes humanes o de ruminants. La majoria de brots s'associen al consum de carn de vaca crua o poc cuïta com les hamburgueses o les salsitxes. Altres aliments implicats poden ser les gemmes de raves, d'alfals, els enciams, els melons o les patates regats amb aigües contaminades o contaminats posteriorment, així com la sidra, el suc de poma, la salsa maionesa, la llonganissa, la llet crua de vaca i cabra, i fins i tot la llet pasteuritzada, el formatge i el iogurt.¹⁰

També s'han produït brots per contacte persona-persona, animal-persona i a través de l'aigua contaminada de beguda o amb el seu contacte en zones recreatives.

Pervivència als aliments

ECVT O157 és extremadament tolerant a l'ambient àcid; per exemple, és capaç de sobreviure en les condicions de fermentació, dessecació i emmagatzematge de la llonganissa (pH de 4,5) durant un període de temps de fins a dos mesos a 4 °C. Al suc de poma (pH de 3,6 - 4,0) aconseguix sobreviure durant 10-31 dies a 8 °C i 2-3 dies a 20 °C.¹⁰

ECVT O157 no presenta una termotolerància especial, per tant es pot aconseguir, de manera efectiva, la seva inactivació per la calor. Continguts elevats de greix i la presència d'alts nivells de flora microbiana competitiva protegeixen el patogen de la destrucció tèrmica. L'escalfament

adequat dels aliments d'origen animal arribant a una temperatura interna d'almenys 68,3 °C durant 40 segons assegura la inactivació d'ECVT O157.⁵⁸

Aquests microorganismes són més resistents a la congelació que altres coliformes.

Una dosi d'irradiació d'1,5 Kgy és suficient per eliminar els nivells d'*E. coli* O157:H7 que normalment es troben a les hamburgueses de carn de vaca.¹⁰

Patogènia

ECVT s'uneix a l'epiteli intestinal del budell gruixut mitjançant unes fimbries codificades al plasmidi pO157 i posteriorment, com ECEP, les soques d'ECVT produeixen la lesió d'adhesió i esborrament de les microvellositats intestinals codificada pels gens *eae*, *tir*, *esp* i *sep*, que es localitzen a l'illa de patogenicitat LEE. Encara que els ECVT s'uneixen íntimament als enteròcits, no arriben a envair-los intracel·lularment.^{10,45,58,59}

A més, ECVT produeix verotoxines, que són citotoxines potents que destrueixen les cèl·lules Vero, i estan relacionades immunològicament i estructuralment amb la toxina Shiga produïda per *Shigella dysenteriae* 1.

Hi ha dos tipus de verotoxines: VT1 (Stx1) i VT2 (Stx2), i diverses variants de VT2. Estan constituïdes per una única subunitat A unida de forma no covalent a un pentàmer de subunitats B. La unió de les verotoxines a les cèl·lules intestinals s'aconsegueix per la interacció de les subunitats B amb els receptors cel·lulars Gb3 compostos per glicolípid. Estan codificades pels gens *vt1* i *vt2*, que es localitzen al genoma de profags integrats al cromosoma bacterià. Aquestes toxines inhibeixen la síntesi proteica i produeixen la mort cel·lular.^{10,45,58}

S'ha comprovat que molts ECVT produeixen un tipus d'hemolisina denominada enterohemolisina (EHEC-hly o Ehly), codificada al plasmidi pO157. El 100 % de les soques d'ECVT O157 contenen el gen *eae* i el plasmidi pO157 enfront de menys del 30 % d'ECVT no O157. El gen *eae* s'ha associat clarament amb la virulència, i s'ha detectat en la majoria de les soques causants de SHU. No obstant això, algunes soques mancades d'aquest gen han provocat brots de la síndrome hemolíticourèmica (SHU).^{10,45,58,60}

Dosi infectant i població susceptible

No es coneix la dosi infectiva mínima, però per les anàlisis retrospectives d'aliments associades a brots, i per la facilitat del microorganisme de transmetre's de persona a persona, aquesta dosi ha de ser baixa, inferior a 10² cèl·lules i similar a la de les shigel·les (tan baixa com 10 organismes).¹¹

Totes les persones poden ser susceptibles de patir una CH, però els infants menors de 5 anys i la gent gran major de 65 anys presenten símptomes més greus més sovint.¹¹

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació s'estima que és de 3 a 4 dies, amb uns límits de 2 a 12 dies.¹³

L'excreció fecal d'*E. coli* O157:H7 en pacients amb CH i SHU generalment dura de 13 a 21 dies des de l'inici de la simptomatologia, però, en alguns casos es pot prolongar durant setmanes. No s'han detectat persones portadores asimptomàtiques de llarga durada.

Manifestacions clíniques

La simptomatologia s'inicia amb forts dolors abdominals seguits de diarrea aquosa que esdevé sanguinolenta. S'han descrit, però, casos sense sang. La febre és inexistent o baixa, i afecta la meitat de les persones malaltes.

En un 10 % - 15 % de persones malaltes es produeixen complicacions, com la SHU o la púrpura trombòtica trombocitopènica (PTT).

El risc de complicacions extraintestinals (SHU i PTT) és més gran en infants menors de cinc anys i en persones grans majors de 65 anys.^{46,61}

Diagnòstic microbiològic

El transport de la femta es fa com a ECEP i és importantíssim recollir les mostres fecals al més aviat possible, encara millor si no han transcorregut més de 48 hores des de l'inici de la diarrea; posteriorment és molt difícil aïllar el microorganisme.

En la detecció d'ECVT O157 mitjançant cultiu, les femtes poden ser sembrades directament en agar selectiu diferencial, o bé, per augmentar l'eficiència en la recuperació es poden inocular en un brou selectiu d'enriquiment i posteriorment procedir a la sembra en agar selectiu diferencial.³⁴

L'enriquiment pot anar seguit d'una separació immunomagnètica (SIM) mitjançant microesfèrules metàl·liques recobertes amb anticossos específics davant el O157 abans de la sembra en agar.³⁴

ECVT O157:H⁻, i en especial O157:H7, a diferència de la majoria (més del 90 %) de les soques d'*E. coli* no fermenten el sorbitol i són β -glucuronidasa negatives. A més creixen en presència de tel·lurit i cefixima. Basant-se en aquestes propietats s'ha desenvolupat el mitjà de cultiu MacConkey sorbitol (SMAC) sol o amb tel·lurit i cefixima (CTSMAC). S'ha de tenir en compte que hi ha poques soques atípiques β -glucuronidasa positives i sorbitol positives. Hi ha també medis de cultiu cromogènics.^{34,61}

ECVT que pertanyen a altres serotips (no O157) no tenen característiques diferencials que facilitin el seu aïllament i la seva identificació.

El serotipatge es basa en la identificació dels antígens somàtics (O) i flagel·lars (H) amb anticossos específics mitjançant tècniques d'aglutinació.

Sovint l'expressió de l'antigen flagel·lar és feble i per tant la seva detecció és difícil. Els últims anys s'han desenvolupat mètodes comercials per a la identificació dels antigens O157 i H7 basats en l'aglutinació amb reactius de làtex (O157 i H7) o mitjançant tècniques d'enzimoinmunoanàlisi (EIA) per a O157. Recentment també s'han desenvolupat sistemes comercials per a la identificació dels antigens somàtics dels sis serotips no O157 més comuns (O26, O91, O103, O111, O128 i O145). El gen *flhC* i el *rfbE*, que codifiquen les estructures dels antigens H7 i O157 respectivament, es poden detectar mitjançant la tècnica de PCR, que és més sensible que la detecció de l'antigen flagel·lar.^{34,58,61}

La detecció de les verotoxines (VT) es pot fer per tres mètodes diferents, que són els assaigs de citotoxicitat en cultius cel·lulars Vero i HeLa, complexos i poc pràctics, els assaigs immunològics mitjançant mètodes comercials d'EIA, i les proves d'ADN mitjançant tècniques de PCR per a la detecció dels gens *stx*.^{34,58}

També mitjançant tècniques de PCR es pot detectar els gens *eae* (intimina) i el gen *EntHly* (enterohemolisina).⁵⁸

Tractament

S'ha d'instaurar un tractament exclusivament de suport. El tractament amb antimicrobians no està indicat perquè alguns estudis han posat de manifest que el seu ús, especialment en infants, s'associa amb un alt risc de patir SHU probablement per la inducció de l'alliberament de les verotoxines.

3.1.5 *Yersinia enterocolítica*

El gènere *Yersinia* pertany a la família *Enterobacteriaceae* i inclou deu espècies: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolítica*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. bercovien*, *Y. mollaretii*, *Y. rohdei*, i *Y. aldovae*.⁶² Les espècies *Y. pestis*, causant de la pesta, *Y. pseudotuberculosis*, juntament amb certes soques de *Y. enterocolítica* causen enteritis i adenitis mesentèrica, i són importants patògens per a l'ésser humà i alguns animals de sang calenta, mentre que les altres espècies són d'origen ambiental i no són patògenes.⁶²

Les yersínies són coccobacils gramnegatius, aerobis i anaerobis facultatius. Creixen entre 0 °C i 45 °C, amb una temperatura òptima de creixement d'entre 25 °C i 28 °C. Excepte *Y. pestis*, que és immòbil, les altres espècies són mòbils entre 22 °C i 30 °C però no a 37 °C.⁶²

Les espècies de *Y. enterocolítica* es poden subdividir en biotips (biovars) que es correlacionen amb la patogenicitat (taula 14).

Els serotips de *Y. enterocolítica* es classifiquen segons els antigens somàtics (O) del lipopolisacàrid. Les soques enteropatogèniques de *Y. enterocolítica* pertanyen a un nombre limitat de serogrupos que s'associen a dife-

Taula 14. Biotips de *Yersinia enterocolitica*

Prova bioquímica	1A	1B	2	3	4	5
Lipasa (hidròlisi del <i>tween</i>)	+	+	-	-	-	-
Hidròlisi d'esculina	+	-	-	-	-	-
Producció d'indole	+	+	(+)	-	-	-
Fermentació de xilosa	+	+	+	+	-	v
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	(+)
Fermentació de trehalosa	+	+	+	+	+	-
Reducció de nitrats	+	+	+	+	+	-
Pirazinamidasa	+	-	-	-	-	-
β -glucosidasa	+	-	-	-	-	-
Prolina peptidasa	v	-	-	-	-	-

Hi ha una correlació entre el biotip i el serogrup. El serogrup O3 pertany al biotip 4, i el serogrup O9 al biotip 2. Un conjunt de soques patògenes esculina negatives de diversos serotips O4,32; O13a,13b; O16; O18; O20 i O21 es troben juntament amb el O8 al biotip 1B; hi ha una prevalença alta d'aquestes soques a Nord-amèrica.

v: resultat variable de la prova. (+): positiu lent.

rents biotips. Els serogrupos patògens O8; O4,32; O13a,13b; O18; O20 i O21 es troben gairebé exclusivament als Estats Units, són esculinonegatiu i pertanyen al biotip 1B (soques americanes). El serogrup O3 és la varietat més freqüentment aïllada al sud d'Europa en humans, i aquest serogrup pertany al biovar 4 i menys sovint al biovar 3. Altres serogrupos també aïllats amb relativa freqüència són el O9 (biovar 2) i el O5,27 (biovar 2 o 3) particularment al nord d'Europa.^{10,63,64}

En *Y. enterocolitica* s'han identificat almenys 18 antigens flagel·lars (H), que es designen amb lletres minúscules.^{10,63}

La incidència dels aïllaments de *Y. enterocolitica* és més alta durant l'estació freda del clima temperat al nord d'Europa (especialment Escandinàvia), Nord-amèrica i les regions de clima temperat de Sud-amèrica.¹³

Reservori i font d'infecció

Y. enterocolitica es pot aïllar del tracte intestinal de moltes espècies diferents de mamífers, així com d'ocells, granotes, peixos, mosques, puces i ostones. Però hi ha una correlació entre el serogrup (i biotip) i el reservori. El porc és l'únic animal on el serogrup O3 biotip 4 s'ha aïllat amb un cert grau de freqüència. Els porcs poden també ser portadors dels serogrupos O9 i O5,27. El serotip O9 biotip 2 s'ha aïllat del bestiar boví, oví i caprí.^{10,13,65}

Els aliments on sovint es pot aïllar *Y. enterocolitica* són la carn de porc, de vaca, de be, de pollastre i als productes làctics. Els serogrupos no patògens es troben amb freqüència a la terra, la vegetació, en llacs, rius, fonts i rierols.^{10,11,66}

La transmissió de la malaltia té lloc fonamentalment per la ingesta d'aliments crus o poc cuits, o d'aigua contaminada. La contaminació encreuada a partir de productes del porc a altres aliments suposa una font important d'infecció humana. Encara que menys sovint, la transmissió també pot tenir lloc per contacte directe amb malalts o animals.⁶⁷

Pervivència als aliments

Y. enterocolitica es multiplica activament a temperatures pròximes a 4 °C, i per això pot créixer en aliments refrigerats.⁶⁸ Als aliments congelats pot sobreviure durant llargs períodes de temps. Fins i tot sobreviu després de descongelar-se i tornar-se a congelar per segona vegada. *Y. enterocolitica* generalment sobreviu millor en temperatura ambient (entre 28 °C i 29 °C) i en la temperatura de refrigeració que en temperatures intermèdies. El fet que la temperatura òptima de creixement sigui de 28 °C o 29 °C suposa que en èpoques caloroses aliments mantinguts en l'ambient puguin assolir fàcilment nivells de microorganismes molt elevats. Aquest microorganisme sobreviu més temps en aliments cuinats que en aliments crus, probablement, a causa de l'augment de disponibilitat dels nutrients en els primers. *Y. enterocolitica* pot créixer en la temperatura de refrigeració a la carn envasada al buit, els ous bullits, el peix bullit, l'ou líquid pasteuritzat, a la llet sencera pasteuritzada, i al mató. També creix al marisc refrigerat com les ostres, les gambetes crues i a la carn de cranc cuïta, però en una proporció mes petita que a la carn de porc i vaca.^{10,68}

Y. enterocolitica pot créixer en valors extrems de pH entre 4 i 10, encara que el pH òptim de creixement és 7,6. Tolera molt bé l'ambient alcalí, però la tolerància a l'acidesa és menys aparent i depèn de l'acidulant que es faci servir, de la temperatura ambient, de la composició del mitjà i de la fase de creixement del bacteri. La tolerància a l'acidesa de *Y. enterocolitica* millora amb la producció d'ureasa, que hidrolitza la urea i la transforma en amoníac de manera que eleva així el pH.¹⁰

Y. enterocolitica és susceptible a la calor i fàcilment mor per pasteurització a 71,8 °C durant 18 segons, o a 62,8 °C durant 30 min. L'exposició de superfícies contaminades a l'aigua calenta (80 °C) durant 10 a 20 segons redueix la viabilitat dels bacteris en un 99 %.⁶⁴

Y. enterocolitica és susceptible a la radiació ionitzant i ultraviolada, i al nitrat i nitrit sòdic afegit als aliments. També és susceptible als àcids orgànics com l'àcid làctic i l'àcid acètic i el clor.⁶⁴

Patogènia

No totes les soques de *Y. enterocolitica* són patogèniques. D'altra banda, hi ha una patogenicitat específica per a diferents animals i l'ésser humà.

Les soques patogèniques de *Y. enterocolitica* són portadores d'un plasmidi de virulència de 70 Kb anomenat pYV, on es localitza el gen *yadA*, que codifica una proteïna de membrana externa (YadA) que és un factor de virulència essencial.^{10,69}

Y. enterocolitica és un patògen invasiu. El bacteri envaeix la mucosa ileocecal, penetra a l'interior de les cèl·lules epitelials, el plexe limfàtic de la paret i els ganglis limfàtics mesentèrics, i dóna lloc a ulceracions de la mucosa intestinal, necrosi de les plaques de Peyer i limfadenitis mesentèrica purulenta. Si el bacteri arriba als nòduls limfàtics pot entrar a la circulació de la sang i disseminar-se per l'organisme; es localitzarà, preferentment, al fetge i la melsa.⁷⁰

La capacitat de *Y. enterocolitica* de penetrar a l'interior de les cèl·lules s'associa a una proteïna de la membrana externa anomenada invasina, que és molt semblant a la intimina d'ECEP i ECEH i que està codificada pel gen *inv*. Aquest gen és funcional només en *Y. pseudotuberculosis* i en els biovars clàssics patògens de *Y. enterocolitica*. Això suggereix que la invasina té un paper clau en la virulència d'aquest bacteri. Aquesta capacitat del bacteri està relacionada, també, amb una proteïna associada a la membrana (Ail) codificada pel gen *ail* que promou la invasió a l'interior de les cèl·lules eucariotes.^{10,69}

Altres factors de virulència inclouen una fosfolipasa A. Les soques que no en produeixen són menys virulentes. Moltes soques de *Y. enterocolitica* secreten una enterotoxina termoestable (Yst), però la seva contribució a la diarrea és incerta.¹⁰

L'observació que els pacients que presenten una hemocromatosi (nivells elevats de ferro a la sang) són més susceptibles de patir una infecció greu per *Y. enterocolitica* suggereix que la disponibilitat de ferro als teixits pot determinar l'evolució de la yersinioosi.⁶⁴

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectant de *Y. enterocolitica* no es coneix amb precisió, però es pensa que és elevada, de manera que poden caldre càrrecs superiors a 10^4 organismes perquè es produeixi infecció clínica.¹⁰

La població susceptible de patir gastroenteritis per *Y. enterocolitica* està formada per infants molt petits i persones grans. La poliartritis reactiva post-infecciosa és més freqüent en adolescents i adults, i especialment els que presenten l'antigen HLA-B27 i la sèpsia es pot presentar més sovint en malalts immunodeprimits (per malaltia o tractament) i en pacients amb hemocromatosi.¹¹

Període d'incubació i transmissibilitat

Normalment el període d'incubació és de 4 a 7 dies, però pot oscil·lar entre 1 i 10 dies. L'eliminació fecal dura mentre hi ha símptomes clínics de malal-

tia, i s'estén fins a 2-3 setmanes. En els casos no tractats pot arribar fins a 3 mesos. S'han detectat persones portadores asimptomàtiques durant un període prolongat, tant en infants com en adults.¹³

Manifestacions clíniques

La clínica habitual de la infecció per *Y. enterocolitica* és l'enterocolitis, caracteritzada per diarrea, dolor abdominal i febre amb una durada variable d'entre 1 i 3 setmanes. Les nàusees i els vòmits es presenten en un 15 % a un 40 % dels casos. En les femtes és freqüent la presència de leucòcits, moc i sang. En casos greus hi pot haver perforació de l'ili i rectoràgies. La majoria dels malalts són menors de 5 anys.^{70,71}

En alguns casos es pot produir adenitis mesentèrica i/o ileïtis terminal, que és més freqüent en nens grans i adolescents i clínicament no es pot distingir de l'apendicitis. Una altra manifestació és la faringitis, que en alguns casos no s'acompanya de diarrea. La sèpsia és infreqüent i es presenta, en general, en malalts amb dèficit dels mecanismes de defensa antiinfecciosa, en els pacients amb hemocromatosi i en la gent gran. En aquests casos els pacients poden desenvolupar abscessos hepàtics o esplènics, peritonitis, artritis sèptica, osteomielitis o meningitis.⁷²

En alguns casos, després de la malaltia aguda (entre pocs dies i un mes) pot aparèixer un eritema nodós i poliartritis reactiva, en particular als adults i especialment els que presenten l'antigen HLA-B27.⁷²

Diagnòstic microbiològic

Les enteritis es diagnostiquen per coprocultiu. Malgrat que les espècies de *Yersinia* creixen bé en mitjans de cultiu com l'agar MacConkey i l'agar salmonel·la-shigel·la utilitzats per a l'aïllament dels enterobacteris, l'aïllament de *Yersinia* a partir de la femta pot ser difícil a causa del seu creixement lent i del sobrecreixement de la flora fecal normal. El millor medi selectiu és l'agar CIN (cefsulodin, irgasan i novobiocina). Aquest medi es pot presentar amb diferents concentracions de cefsulodin (de 4 a 15 µg/ml) però és recomanable utilitzar la més petita perquè permet un bon creixement tant de les espècies de *Yersinia* com de les d'*Aeromonas*. La incubació d'aquest medi de cultiu es fa a 25 °C - 30 °C durant 48 hores.⁶²

Altres medis d'enriquiment són el brou modificat de Rappaport (MRB), que conté clorur magnèsic, verd de malaquita i carbenicil·lina, les mostres del qual s'incuben a 25 °C durant 2-4 dies. S'ha desenvolupat un altre brou d'enriquiment que consisteix en el modificat de Rappaport amb suplement d'irgasan, ticarcil·lina i clorat potàssic. Els dos medis són útils per aïllar soques del bioserogrup 4/O3.⁶⁹

Generalment no cal enriquir les femtes en els pacients amb diarrea, però sí que és aconsellable en pacients amb ileïtis terminal o artritis reactiva sen-

se diarrea, processos en els quals el nombre d'organismes excretats és baix. Es pot utilitzar un enriquiment en fred amb *buffer* fosfat salí (pH 7,4) a 4 °C durant 2-3 setmanes realitzant subcultius setmanals. L'inconvenient d'aquests mètodes és que també faciliten el creixement de les espècies de *Yersinia* no patògenes i dels serogrupos no virulents de *Y. enterocolitica*, així com d'altres bacteris psicrotròfics. La femta es pot tractar selectivament amb àlcali (KOH) abans de sembrar un medi selectiu per reduir la flora acompanyant.^{69,73}

La diferenciació de les espècies dintre del gènere *Yersinia* es fa mitjançant la identificació bioquímica amb diferents proves incubades a 28 °C i 35 °C. Per raons d'importància epidemiològica, les soques de *Yersinia* han d'estar caracteritzades segons els seus biotips i serotips. Cal no oblidar que només alguns bioserotips són patògens.⁶²

Els estudis serològics per detectar anticossos en front dels serogrupos patògens de *Y. enterocolitica* es duen a terme mitjançant el test d'aglutinació, el test ELISA i el test d'immunotransferència, però no són útils per al diagnòstic de la malaltia.⁶²

Amb la determinació del plasmidi pYV i de diferents gens de virulència (*yopN*, *yopT*, *yadA*, *virF*, *ail*, *inv* i *yst*) per mitjà de les tècniques de PCR, directament de la mostra de femta, es pot determinar de forma ràpida la presència de soques patògenes de *Y. enterocolitica*.⁶⁹

Tractament

La majoria d'infeccions intestinals són autolimitades i, d'altra banda, no es coneix el benefici que pot aportar el tractament antibiòtic a part de la reducció de l'excreció de microorganismes. Els aminoglicòsids, les tetraciclins, el cotrimoxazole, les fluoroquinolones i la cefotaxima i la ceftriaxona són actives. En cas de malaltia greu o sèpsia s'ha d'administrar un antibiòtic aminoglicòsid per via parenteral (taula 12).⁷²

3.1.6 *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes és l'espècie tipus d'entre les sis espècies que constitueixen el gènere *Listeria*. És un bacil grampositiu curt, no esporulat, aerobi i anaerobi facultatiu, mòbil a 28 °C i amb una temperatura òptima de creixement d'entre 30 °C i 37 °C.⁷⁴

L. monocytogenes és un patògen oportunista que causa infecció sistèmica, particularment en les persones immunodeprimides, així com també en les dones embarassades, els nounats i les persones grans. Malgrat l'existència d'antecedents de diarrea en els pacients amb listeriosi invasiva, des de fa 25 anys es considera *L. monocytogenes* com un agent etiològic de gastroenteritis en brots de toxiinfecció alimentària. Almenys s'han descrit a la literatura set brots produïts per aquest microorganisme.⁷⁵

Més del 95 % de les infeccions humanes estan causades per soques dels serotips 1/2a, 1/2b i 4b, i són els serotips 1/2a i 1/2b els que s'han aïllat més sovint en els brots de gastroenteritis.⁷⁵

Reservori i font d'infecció

Aquest microorganisme es troba àmpliament distribuït a la natura. Es pot aïllar del tub digestiu de nombroses espècies de mamífers i ocells, d'alguns peixos i del marisc. Es troba també a la terra, a les plantes i l'aigua.¹¹ Entre un 1 % i un 10 % d'éssers humans poden ser portadors intestinals asimptomàtics d'aquest microorganisme.¹¹

La infecció humana es produeix pel consum d'aliments contaminats com la llet, els formatges tous durant la maduració, els patés, els vegetals crus i tot tipus de carn, i en especial el pollastre, el peix cru o fumat i el marisc.^{76,77}

L. monocytogenes és present als escorxadors, tant a les àrees brutes com a les netes, de manera que els manipuladors d'aliments en poden ser una font d'infecció important.¹⁰

Pervivència als aliments

Encara que és un microorganisme no esporulat, és resistent a les condicions adverses ambientals. És resistent a la calor i al fred. Pot créixer des de 0 °C a 45 °C, però el creixement és més lent a temperatures més fredes. La congelació no redueix significativament la població bacteriana. *L. monocytogenes* mor a temperatures superiors a 50 °C.¹⁰

Creix a pH 4,4, i per sota de 4,3 les cèl·lules bacterianes sobreviuen però no creixen.¹⁰

Els àcids orgànics, com l'acètic, el cítric i el làctic, a una concentració del 0,1 %, inhibeixen el creixement de *L. monocytogenes*.

El bacteri sobreviu i creix durant llargs períodes de temps en presència de clorur sòdic al 10 % i al 12 %, per aquesta raó las carns curades són un aliment molt apropiat per al creixement de la listèria.¹⁰

Patogènia

Com ja s'ha comentat anteriorment, la presència de *L. monocytogenes* als aliments és freqüent, la seva ingesta és comuna però l'aparició de la infecció és rara, sobretot en persones sanes.

En els brots de toxiinfecció alimentària, i contràriament al que s'esdevé en la listeriosi invasiva, la majoria de les persones afectades són sanes, sense malalties de base. Això fa pensar que la ingesta d'un gran inòcul de *L. monocytogenes* és un dels factors patogènics més importants.⁷⁵

El mecanisme pel qual aquest microorganisme produeix diarrea és desconegut, però sembla que pot ser resultat d'un mecanisme invasiu. Es creu que no produeix enterotoxines.⁷⁵

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectant de *L. monocytogenes* és desconeguda, però es creu que varia segons la soca bacteriana i la susceptibilitat personal (immunodeficiència, embaràs). En pacients immunodeprimits es considera que hi pot haver prou amb 1.000 microorganismes per produir malaltia, mentre que en persones sanes aquesta dosi ha de ser molt més elevada ($1,9 \times 10^5$ a 1×10^9 ufc/g o ml d'aliment).^{10,11}

En els brots de toxiinfecció alimentària, a més dels pacients immunodeprimits, totes les persones sanes poden patir la malaltia, tot i que les persones sotmeses a tractament amb antiàcids o cimetidina tenen més predisposició a patir la infecció per aquest microorganisme.¹¹

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació de la gastroenteritis és desconegut, però es creu que probablement és de més de 12 hores. Els pacients presenten els símptomes de la malaltia entre 24 i 48 hores després de la ingesta de l'aliment contaminat.⁷⁸

Les persones infectades poden eliminar el microorganisme per les femtes durant diversos mesos.¹³

Manifestacions clíniques

En els brots de gastroenteritis per toxiinfecció alimentària, els símptomes clínics més freqüents són febre, diarrea, artromiàlgies i mal de cap. En la majoria dels brots, més del 70 % dels pacients tenen almenys un símptoma relacionat amb patologia gastrointestinal (diarrea, vòmits, nàusees i/o dolor abdominal). Els vòmits i la febre són més freqüents en els infants, mentre que en els adults la diarrea i l'artromiàlgia són els símptomes més comuns. La diarrea és líquida i normalment no presenta sang.⁷⁵

En les persones sanes, sense malaltia de base, normalment no hi ha complicacions greus. La bacterièmia pot ser una de les complicacions de la malaltia gastrointestinal.

La malaltia s'autolimita en 1 a 3 dies, però en algun cas es pot allargar fins a una setmana. En un percentatge petit de casos, els infants o la gent gran poden requerir ingrés hospitalari.⁷⁵

Diagnòstic microbiològic

En el diagnòstic de la gastroenteritis és recomanable enriquir selectivament les femtes abans de fer el coprocultiu en medis adequats.

Un dels mètodes d'enriquiment pot ser la utilització del brou PALCAM incubat a 30 °C durant 24-48 h i posterior cultiu en agar PALCAM que s'incubarà a 30 °C durant 48 h en atmosfera microaeròbica (5 % d'oxigen, 7, 5% de diòxid de carboni, 7,5 % d'hidrogen i 80 % de nitrogen).

Un nou medi de cultiu per *Listeria* és el CHROMagar que permet, per les característiques morfològiques de les colònies, diferenciar entre *L. monocytogenes* i altres *Listeria* spp. Les colònies sospitoses es resembren en un medi d'agar triptona soja amb 5 % de sang d'ovella, que s'incuba durant 18 h a 35 °C per fer la identificació de la soca.

Pot ser útil, per diferenciar entre persones infectades i no infectades, la determinació d'anticossos en sang davant l'hemolisina O.

Tractament

La gastroenteritis per *L. monocytogenes* és autolimitada i no hi ha dades d'eficàcia del tractament antibiòtic en aquesta malaltia. Les persones immunodeprimides, així com les embarassades, es poden tractar amb ampicil·lina o cotrimoxazole per evitar el risc de listeriosi invasiva.⁷⁹

3.1.7 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus és un coc grampositiu aerobi i anaerobi facultatiu catalasa positiu que creix bé als medis usuals de cultiu, fins i tot en presència d'elevades concentracions de clorur sòdic. Té un gran potencial patògen ja que envaeix els teixits a causa de la producció de gran nombre d'exoenzims. A més del mecanisme invasor, pot produir malaltia per mecanisme toxigènic, com la gastroenteritis per alliberament d'una enterotoxina preformada als aliments, que és un dels agents de toxiinfecció alimentària més freqüents.⁸⁰

Reservori i font d'infecció

El principal reservori és el portador humà, encara que es pot trobar en els animals. En les persones, *S. aureus* forma part de la flora nasal i en menor freqüència es troba a la faringe, el cabell i la pell del 10 % al 40 % dels individus sans. Aquesta incidència s'eleva en els casos de persones en contacte amb malalts o en ambients hospitalaris. En el reservori animal es pot trobar a les mamelles dels bòvids i òvids (mastitis bovina i ovina), i pot contaminar la llet.^{10,11,81,82}

La transmissió pot tenir lloc per contacte directe, mitjançant la descamació de la pell o per la via respiratòria mitjançant la tos i els esternuts. Les persones que manipulen aliments són, sovint, la principal font de contaminació dels aliments en els brots de toxiinfecció alimentària per aquest microorganisme. *S. aureus* es pot trobar en una gran varietat d'aliments contaminats durant la seva manipulació, preparació i transport, quan les mesures higièniques adoptades són deficitàries. Els aliments que més freqüentment estan implicats en brots de toxiinfecció alimentària per *S. aureus* són els productes carnis; les amanides amb ou, tonyina, pollastre, patates i macarrons; les salses; els pastissos de crema; els dolços de xoco-

lata; la llet i els productes làctics com flams i crema. Sovint es produeixen brots per aquest microorganisme quan els aliments són refrigerats inadequadament o es consumeixen sense una bona cocció o sense escalfar, o molt després de la seva preparació.^{10,11}

A causa de la resistència de les soques de *S. aureus*, com s'assenyala més endavant, s'han descrit brots d'origen ambiental.

Pervivència als aliments

S. aureus és un dels patògens no esporulats més resistents; pot sobreviure en ambients secs i es troba a l'aire, la pols, les aigües residuals i les superfícies ambientals, d'on es pot aïllar amb relativa facilitat. El microorganisme s'inactiva a la temperatura de cocció dels aliments (a 60 °C o superior) i a la temperatura de refrigeració (a 7,2 °C o superior); les enterotoxines, en canvi, són termoestables i necessiten temperatures molt més altes per inactivar-se. És relativament freqüent, per tant, detectar la toxina en l'aliment en absència del microorganisme viable.^{10,11}

S. aureus és osmotolerant, creix en aliments amb altes concentracions de sal i sucre, i sobreviu en situacions de baix intercanvi hídric. En situacions extremes de creixement (estrès osmòtic), el microorganisme no produeix toxines. La toxina es produeix a temperatures d'entre 7,8 °C i 45,6 °C, amb una òptima de 37 °C. El pH òptim se situa entre 4,7 i 8,9.¹⁰

Patogènia

En la patogènia de *S. aureus* participen una sèrie de factors de virulència extracel·lulars com poden ser les proteïnes de superfície o adhesines, implicades en l'adherència i colonització del microorganisme en els teixits diana, el polisacàrid capsular, les citotoxines (hemolisines i leucocidines), els superantígens (toxines) i els enzims, tots ells responsables de la invasió i de la malaltia "a distància". Els superantígens són un grup d'exotoxines entre les quals hi ha la toxina del xoc tòxic (TSST-1), les toxines exfoliatives causants de la síndrome de la pell escaldada, i les enterotoxines, implicades en les toxiinfeccions alimentàries, que són alliberades pel microorganisme als aliments abans de la seva ingesta (toxines preformades).⁸²

S. aureus produeix almenys 15 tipus diferents d'enterotoxines (A, B, Cn, D, E, G, H, I, J, K, L, M, N, O), i el tipus C se subdivideix en tres subtipus. Les enterotoxines A, B i C són les que s'associen més sovint a les toxiinfeccions alimentàries. La quantitat en què es troben en l'aliment depèn del tipus de soca; no obstant això, les enterotoxines B i C són les que es produeixen en més quantitat. Algunes soques produeixen nivells baixos d'enterotoxines.^{10,11,82}

El mecanisme d'acció de les enterotoxines a la superfície de la mucosa intestinal no és clar. L'enterotoxina B pot travessar la mucosa intestinal; en canvi, l'enterotoxina A, que és una de les toxines més freqüents en les toxiinfeccions alimentàries, és incapaç de fer-ho.

Dosi infectant i població susceptible

Segons la Food and Drug Administration (FDA), quan els nivells de *S. aureus* en els aliments són superiors a 10^5 cèl·lules/g hi pot haver prou quantitat d'enterotoxina per produir malaltia. Altres estudis suggereixen un interval d'entre 10^5 i 10^8 cèl·lules/g d'aliment; ara bé, alguns brots s'han produït amb quantitats més petites de microorganisme.^{10,83}

Malgrat que les enterotoxines de *S. aureus* són prou potents, i quantitats d'1 ng (10^{-9} g)/g d'aliment poden produir malaltia, els nivells detectats d'aquestes enterotoxines en aliments causants de brots de toxiinfecció alimentària han resultat més alts comparats amb els nivells d'altres exotoxines. La majoria de brots es produeixen per la ingesta d'1 a 5 µg/g d'aliment de toxina per persona.¹⁰

Totes les persones són susceptibles de patir aquesta toxiinfecció alimentària, no obstant això, la intensitat dels símptomes varien segons la susceptibilitat personal a la toxina, la dosi ingerida, el tipus de toxina i l'estat general de la persona. Malgrat que l'enterotoxina A és una de les més freqüents, la B produeix una simptomatologia més greu. En un estudi realitzat en voluntaris humans, la ingesta de 0,4 µg/kg de pes corporal d'enterotoxina B, parcialment purificada, va provocar l'aparició de vòmits.^{10,83}

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació de la malaltia, com en altres toxiinfeccions alimentàries causades per toxines preformades als aliments, és molt curt, oscil·la entre 30 minuts i 6 hores. En general de 2 a 4 hores després de la ingestió de l'aliment contaminat s'inicia la simptomatologia. La malaltia no es transmet de persona a persona.^{10,83}

Manifestacions clíniques

Les manifestacions s'inicien precoçment, amb nàusees i vòmits, que són predominants, i diarrea amb dolor abdominal. La febre és rara. Hi pot haver hipotèrmia, prostració, deshidratació i hipotensió. La simptomatologia desapareix a les 8-48 hores del seu començament, però a vegades requereix hospitalització.^{11,82}

Diagnòstic microbiològic

La presència de l'estafilococ s'ha d'investigar als aliments, que cal transportar al laboratori en condicions refrigerades. Valors de 10^5 ufc de *S. aureus* per gram d'aliment són sospitosos de ser responsables de la malaltia, i és impor-

tant per confirmar la sospita determinar l'enterotoxigenicitat de la soca aïllada. En els casos en què l'aïllament del microorganisme sigui inviable, realitzar un examen microscòpic directe de l'aliment pot ser útil per al diagnòstic. El diagnòstic, però, només és incontrovertible quan es detecta la toxina als aliments. Hi ha pocs mètodes comercials de detecció d'antigen. Un d'ells detecta les enterotoxines A, B, C i D mitjançant la tècnica d'aglutinació passiva amb làtex. Aquesta tècnica es pot fer servir en aliments, femtes i en soques de *S. aureus*; el resultat s'obté després de 4 a 24 h, segons l'equip comercial utilitzat.

Tractament

És simptomàtic i consisteix en la rehidratació de la persona malalta. Hi poden estar indicats els antiespasmòdics. No s'han d'utilitzar antibiòtics en aquesta intoxicació.

3.1.8 Clostridium perfringens

El gènere *Clostridium* està format per un grup heterogeni de bacils grampositius esporulats anaerobis. Se n'han descrit més de 150 espècies, però el nombre d'aquestes que habitualment són causa d'infeccions humanes és relativament petit. *C. perfringens* és l'espècie aïllada més sovint en mostres clíniques humanes. Aquest microorganisme és anaerobi estricte, immòbil i encapsulat, i produeix una gran varietat d'infeccions invasives i toxigèniques com la mionecrosi, la cel·lulitis i la sèpsia, entre d'altres. *C. perfringens* és causa de toxiinfeccions alimentàries, i als Estats Units és una de les causes bacterianes més freqüents d'aquesta patologia.⁸⁴

Reservori i font d'infecció

El microorganisme forma part de la flora normal del tub digestiu de l'ésser humà i els animals, on es troba en concentracions elevades. Les femtes humanes normalment contenen de 10^4 a 10^6 organismes/g.¹⁰

C. perfringens es troba àmpliament distribuït a la natura, principalment a la terra (de 10^3 a 10^4 ufc/g), la pols, els aliments (en aproximadament el 50 % de la carn crua o congelada es poden trobar quantitats d'aquest microorganisme) i en el tracte intestinal dels animals domèstics i els éssers humans. Aquesta àmplia distribució originàriament va ser relacionada amb la seva freqüència per produir brots de toxiinfecció alimentària. Malgrat això, estudis recents han demostrat que menys del 5 % de les soques aïllades a la natura són productores de l'enterotoxina, necessària perquè es produeixi la malaltia. Per aquesta raó cal esbrinar on es troben aquestes soques a la natura, si poden ser presents en alguns portadors asimptomàtics o en aliments d'origen animal, i si la seva difusió als aliments té lloc durant la manipulació, la cocció o la conservació.^{10,85,86}

Els brots de toxiinfecció alimentària es relacionen amb la ingesta d'aliments carnis, especialment l'estofat, els pastissos i les salses, tots ells elaborats amb carn de vaca, de gall d'indi o de pollastre. El menjar mexicà pot ser, també, un important vehicle de transmissió. Després de la cocció pot persistir en l'aliment una petita quantitat d'espores, que es poden multiplicar fins arribar a nivells elevats quan la temperatura de conservació és alta. Una inadequada cocció i un rescalfament insuficient contribueixen, encara més, a la persistència del microorganisme i al desenvolupament de les formes vegetatives.¹⁰

Aquests brots es localitzen en llocs com col·legis, presons, residències de gent gran, hospitals, cafeteries, restaurants i serveis d'àpats, on es prepara gran quantitat de menjar unes hores abans de ser servit, i que es conserva en una refrigeració inadequada o a temperatura ambient. Segons dades del CDC, la temperatura de conservació no apropiada és la responsable del 100 % dels brots per *C. perfringens*, mentre que la no adequada cocció i la contaminació del material de cuina són considerats la causa dels brots amb una freqüència del 30 % i el 15 % respectivament.^{10,11}

Pervivència als aliments

C. perfringens té un temps de generació al voltant de 10 minuts; és per això que la seva multiplicació a l'aliment és ràpida.

Les espores són molt resistents a la calor, sovint sobreviuen després d'una hora o més a 100 °C. Per sota dels 50 °C emergeixen les formes vegetatives que, encara que no són autènticament termofíliques, tenen una temperatura òptima de creixement que oscil·la entre 43 °C i 47 °C, amb valors extrems de 15 °C a 50 °C. Hi ha variacions genètiques de *C. perfringens* que determinen diferents propietats de resistència a la calor tant de les espores com de les formes vegetatives.⁸⁶⁻⁸⁸

Les formes vegetatives de *C. perfringens* són sensibles a les temperatures de refrigeració i congelació, el seu creixement disminueix ràpidament a temperatures per sota de 15 °C, i no presenten creixement a 6 °C. Les espores, al contrari, són resistents al fred.¹⁰

El pH òptim per al creixement de *C. perfringens* oscil·la entre 6 i 7. A un pH inferior o igual a 5 i superior o igual a 8,3, el creixement és pobre o no hi ha creixement.⁸⁶

El potencial d'oxidació-reducció de la majoria dels aliments comuns (com els aliments carnis) és prou baix per permetre el creixement de *C. perfringens*.¹⁰

L'enterotoxina és termolàbil i es destrueix per escalfament a 60 °C durant cinc minuts. També és sensible als pH extrems, però és resistent a alguns tractaments proteolítics com per exemple amb tripsina o quimiotripsina, la

qual cosa suggereix que les proteases intestinals humanes puguin activar l'efecte de la toxina.⁸⁹

Patogènia

C. perfringens pot elaborar fins a 12 toxines, tanmateix no totes les soques són portadores dels gens que les codifiquen. Aquesta limitació fa que hi hagi una divisió de l'espècie en cinc tipus serològics classificats de la A a la E segons la producció de les quatre toxines principals (alfa, beta, èpsilon i iota).¹⁰

Els brots de toxiinfecció alimentària estan produïts per dos tipus de *C. perfringens*: el tipus A, que és el més freqüent i produeix una enterotoxina, i el tipus C, que produeix la toxina beta i dona lloc a l'enteritis necròtica.

La producció d'enterotoxina s'ha documentat en més del 50 % de les soques aïllades de casos de toxiinfecció alimentària, però menys sovint en les soques aïllades a l'atzar de portadors sans.

L'enterotoxina està codificada pel gen *cpe*, més freqüentment de naturalesa cromosòmica que plasmídica, i la seva expressió està associada a la forma esporulada del bacteri. Després de 6 a 8 hores d'iniciada l'esporulació en les cèl·lules vegetatives, la quantitat de toxina formada equival al 30 % del total de la proteïna cel·lular. Algunes soques produeixen molta més quantitat de toxina, i això sembla relacionat amb la capacitat d'esporulació de la soca. La toxina s'acumula a l'interior de la cèl·lula bacteriana en forma de cossos d'inclusió paracrystal·lins, i és alliberada al budell quan l'esporulació s'ha completat i la cèl·lula mare es trenca per alliberar les espores.^{10,90}

L'enterotoxina és un polipèptid de 320 aminoàcids que produeix lesió i eventualment lisi cel·lular, i per aquesta raó alguns autors consideren que és una citotoxina en comptes d'una veritable enterotoxina. Al budell prim s'uneix als receptors de la membrana cel·lular de les cèl·lules de la mucosa intestinal i indueix a una alteració de la permeabilitat, calci dependent, que provoca una pèrdua de metabòlits de baix pes molecular i de ions. Aquesta pèrdua altera el metabolisme intracel·lular, fins i tot la síntesi de macromolècules.⁹⁰

En l'enteritis necròtica la lesió intestinal pot variar des de petites zones necròtiques intercalades amb mucosa normal fins a una necrosi greu i extensa.

Dosi infectant i població susceptible

S'admet que els símptomes apareixen quan els aliments estan contaminats per 10^6 a 10^7 bacteris toxigènics per gram d'aliment. No obstant això, com que les formes vegetatives de *C. perfringens* no resisteixen en el medi àcid de l'estómac, s'ha assenyalat que caldrien concentracions superiors a 10^8 , és a dir, aliments molt contaminats, perquè es produís la malaltia.⁸⁸

Les persones d'edat extrema són les més susceptibles de patir la malaltia, i en especial la gent gran debilitada i amb malalties cròniques pot presentar una simptomatologia més greu i d'evolució més prolongada.¹¹

Període d'incubació i transmissibilitat

És de 6 a 24 hores, amb una mitjana de 10 a 12 hores. En la infecció per *C. perfringens* tipus C (enteritis necròtica) el període d'incubació és d'1 a 4 dies, però pot variar des d'hores fins a una setmana. La infecció no es transmet de persona a persona.¹³

Manifestacions clíniques

Clostridium perfringens produeix dues síndromes clíniques diferents, una gastroenteritis relativament lleu produïda per soques del tipus A, i una enteritis necrotitzant.

La simptomatologia de la toxiinfecció alimentària per *C. perfringens* tipus A es caracteritza per dolor abdominal còlic i diarrea aquosa. S'hi poden associar nàusees, vòmits i febre, encara que no són freqüents (entre el 10 % i el 20 % dels casos). Gairebé en tots els pacients la resolució de la simptomatologia és espontània entre 6 i 24 hores, encara que una lleugera simptomatologia pot persistir durant un període d'una a dues setmanes.⁹⁰

L'enteritis necrotitzant és una infecció molt greu, amb una mortalitat elevada, produïda per la toxina beta de *C. perfringens* tipus C. És excepcional al nostre medi i prevalent a l'Extrem Orient entre persones desnodrides amb una alimentació sobretot farinàcia. Recentment s'han comunicat casos d'aquesta infecció produïts per soques de *C. perfringens* tipus A.⁹¹

Diagnòstic microbiològic

El diagnòstic microbiològic es du a terme per cultiu quantitatiu de mostres de femta. La troballa de més de 10^6 ufc de *C. perfringens* per gram de femta n'és suggestiva, encara que aquests valors es poden trobar en persones sanes. És millor, però, fer estudis quantitius de mostres dels aliments implicats, que en són suggestius quan mostren xifres d'aïllament superiors a 10^6 ufc.^{13,84,92,93}

El mètode diagnòstic més adient és la detecció de l'enterotoxina a les femtes mitjançant una prova de neutralització en cèl·lules vero. Actualment es fan servir tècniques de detecció d'antigen del tipus enzimoimmunoanàlisi (ELISA) o aglutinació passiva per làtex.⁹⁰

Hi ha tècniques comercials que es poden emprar amb la femta i amb les soques aïllades de *C. perfringens* per determinar si són toxigèniques. Els límits de detecció de la toxina mitjançant aquestes tècniques se situa en 2-4 ng/g de mostra.

La tècnica d'aglutinació passiva per làtex es correlaciona bé amb la detecció del gen de l'enterotoxina per PCR, és més sensible i reproduïble que els estudis de citotoxicitat cel·lular i resulta més fàcil de dur a terme que les tècniques d'ELISA.

Tractament

És simptomàtic i inclou la rehidratació si és necessària. Els casos greus poden requerir ingrés hospitalari.

3.1.9 *Bacillus cereus*

El gènere *Bacillus* està constituït per bacils grampositius esporulats que poden ser aerobis estrictes o anaerobis facultatius. La majoria són catalasa positius i poden ser mòbils per flagels peritrics. Els components del grup *B. cereus*, que inclou *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides* i *B. thuringiensis*, presenten una gran similitud de les seqüències 16S i 23S rRNA, i estan considerats com a diferents patovarietats d'una única espècie.⁹⁴

Bacillus cereus és un agent etiològic menor de les toxiinfeccions alimentàries, produeix dos tipus de toxines que són causa de dues formes clíniques diferents, una de diarreica, produïda per l'enterotoxina, i un altra d'emètica, produïda per la toxina emètica.

Algunes soques són capaces de produir els dos tipus de toxines, tot i que sembla que entre els aïllaments de *B. cereus* l'activitat enterotoxigènica és superior a l'emetitzant. Els serotips flagel·lars H2, H6, H8, H9 i H10 són més freqüents en la síndrome diarreica, mentre que la malaltia emètica s'associa més aviat al serotip H1 i menys sovint a l'H3 i l'H5.⁹⁵

Reservori i font d'infecció

Bacillus cereus està àmpliament distribuït a la natura, i el reservori és fonamentalment tel·lúric. A causa d'aquest fet i de la capacitat de produir espores, *B. cereus* es dissemina fàcilment. Les espores d'aquest microorganisme es troben arreu i contaminen accidentalment els aliments crus i els elaborats. La transmissió de la malaltia té lloc per ingesta d'aliments contaminats que s'han conservat a temperatura ambient després de la seva elaboració o cocció. Els aliments més implicats en la malaltia diarreica són la carn, els productes làctics, els vegetals i el peix. La malaltia emètica s'associa generalment a la ingesta d'arròs, malgrat que altres aliments que contenen midó com les patates, la pasta i el formatge poden estar-hi implicats. Altres aliments elaborats amb diversos ingredients poden ser, també, causa d'aquesta toxiinfecció, com les salses, els púdings, les sopes, els pastissos i les amanides.⁹⁶

Pervivència als aliments

La majoria dels microorganismes del grup *B. cereus* són mesòfils (creixen a 43 °C), però algunes soques de *B. cereus* són psicrotròfiques o psicrotolerants, i creixen a baixes temperatures, d'entre 4 °C i 7 °C.^{95,97-99}

Les espores de *B. cereus* són relativament resistents en condicions extremes del medi ambient com l'escalfament, la congelació, la deshidratació i la radiació. Són resistents a la radiació amb raigs gamma, que s'utilitzen per reduir els microorganismes patògens dels aliments.⁹⁵

Les espores són hidrofòbiques i presenten la capacitat d'adherir-se a les superfícies, cosa que ocasiona dificultats per eliminar-les durant la neteja, especialment en lleteries. Són, també, una diana difícil per als desinfectants.^{10,95}

La toxina emètica és resistent a la calor (90 minuts a 121 °C), tolera pH extrems, d'entre 2 i 11, i és, a més, estable al tractament amb pepsina i tripsina. L'enterotoxina és termolàbil.¹⁰

Patogènia

L'adhesió del bacteri és un pas essencial en el procés patogènic. Les espores disposen també d'estructures que estan involucrades en l'adhesió.

L' esporulació i la producció d'enterotoxina durant la colonització intestinal suposa l'aparició de símptomes més greus que quan només hi ha la toxina que ha estat preformada a l'aliment.

La toxina emètica és alliberada durant el creixement bacterià en l'aliment, de manera que és, per tant —com ja s'ha indicat—, una toxina preformada, i l'enterotoxina és produïda per les formes vegetatives del microorganisme en el budell prim.

La toxina emètica és un pèptid que s'anomena cereulide, i actua a través del receptor 5-HT₃ i estimula la via vagal aferent. Aquesta toxina no és antigènica.⁹⁶

Bacillus cereus també produeix, almenys, cinc proteïnes diferents, considerades enterotoxines, que són sintetitzades al budell. Dues d'elles (Hbl i Nhe) són complexos de proteïnes, mentre que les altres són proteïnes úniques amb diferents valors de pes molecular.^{95,96}

Dosi infectant i població susceptible

Als aliments implicats en brots s'han trobat entre 10⁵ i 10⁸ microorganismes per gram. La toxina emètica és alliberada durant el creixement bacterià a l'aliment, i l'enterotoxina es pot trobar també a l'aliment quan la quantitat del microorganisme és almenys 100 vegades superior a la necessària per produir toxiinfecció alimentària per alliberament de toxina al budell. Pot passar que aliments que contenen més de 10⁷ microorganismes/ml no presentin alteracions organolèptiques.¹⁰

Totes les persones són susceptibles de patir una toxiinfecció alimentària per *B. cereus*.

Període d'incubació i transmissibilitat

La toxina emetitzant causa malaltia entre 0,5 i 6 hores després de la seva ingesta, i la diarreigènica, entre 8 i 16 hores (ocasionalment més de 24 hores).^{11,13,95}

La malaltia no es transmet de persona a persona.

Manifestacions clíniques

La ingesta d'aliments amb toxina emètica dóna lloc a l'aparició precoç de nàusees i vòmits. De vegades pot aparèixer diarrea. En la síndrome diarreica les manifestacions clíniques característiques són dolor abdominal, rampells intestinals i diarrea aquosa. La simptomatologia no acostuma a durar més de 12 a 24 hores.⁹⁵

Diagnòstic microbiològic

L'aïllament del microorganisme a la femta no té significat diagnòstic atesa la seva ubiqüitat. S'accepta que la detecció de més de 10^5 ufc de *B. cereus* per gram d'aliment té valor diagnòstic.

La detecció de l'enterotoxina a la femta es pot dur a terme mitjançant tècniques immunològiques. Hi ha tècniques comercials d'enzimoinmunoanàlisi que detecten la proteïna de 45 KDa de l'Nhe, i d'aglutinació passiva per làtex, que detecten el component L2 de l'Hbl.

La toxina emètica produïda per *B. cereus* presenta poca antigenicitat i per tant és difícil detectar-la mitjançant tècniques immunològiques.⁹⁵

Tractament

Es requereixen únicament mesures simptomàtiques.

3.1.10 Clostridium botulinum

És el causant del botulisme o al·lantosi, una forma aguda d'intoxicació produïda per la ingesta d'aliments que contenen la toxina elaborada per aquest microorganisme.

C. botulinum és un bacil grampositiu, esporulat, anaerobi estricte que pot produir set tipus diferents de toxina botulínica (A-G).¹⁰⁰

Reservori i font d'infecció

Aquest microorganisme està àmpliament distribuït a la natura, tant a terra com als sediments marins, i pot esporular en condicions d'anaerobiosi. També es pot trobar al contingut intestinal de l'home i de diversos animals. Les espores són resistents i ubiqüitàries. S'han assenyalat variacions en la distribució geogràfica de les diferents soques toxigèniques.¹⁰¹

Els aliments més sovint contaminats i implicats en casos de botulisme són els embotits, el pernil i sobretot les conserves casolanes d'origen vegetal, perquè el tractament a què se sotmeten no destrueix les espores i comporta una atmosfera anaeròbia favorable per a l'elaboració de la toxina.^{10,11,101-103}

Al contrari, els tractaments tèrmics a què s'han de sotmetre les conserves industrials garanteixen la destrucció de les espores de *C. botulinum*.

Les soques productores de toxines A i B poden produir, encara que no sempre, enzims pateolítics que alteren les característiques organolèptiques dels aliments.¹⁰⁴

Pervivència als aliments

Les espores de *C. botulinum* són resistents a la calor i sobreviuen durant hores a 100 °C, mentre que les toxines que són termolàbils es destrueixen a temperatures de 90 °C durant 10 minuts.

Patogènia

Les toxines A, B i E són les implicades més sovint en patologia humana; la F ocasiona casos molt rarament. Les C i D s'han associat a casos de botulisme animal. No es coneixen casos humans produïts per la toxina G. Un cop s'ha contaminat un aliment calen, a més de l'anaerobiosi, altres condicions per a la producció de la toxina, com són alcalinitat i salinitat adequades.

La temperatura òptima de producció de toxina és de 30 °C, però també es pot produir a temperatures de refrigeració. Habitualment cada soca produeix un sol tipus de toxina, tot i que també s'ha descrit la producció simultània de més d'una.

Quan s'ingereix un aliment que conté toxina preformada, aquesta s'absorbeix a l'estómac i al budell prim. Els enzims digestius proteolítics no les destrueixen, i fins i tot poden incrementar l'efecte tòxic d'algunes com la E i la B.

Les formes vegetatives o esporulades de *C. botulinum* poden arribar al còlon i alliberar la toxina localment. Això passa als lactants, perquè encara no s'hi ha establert la flora normal.

Les toxines actuen interferint la neurotransmissió a les sinapsis colinèrgiques perifèriques; en bloquejar l'alliberament d'acetilcolina donen lloc a paràlisi flàccida i alteracions parasimpàtiques.^{10,100}

Dosi infectant i població susceptible

Les toxines botulíniques són les més potents que es coneixen, i la dosi letal per a l'ésser humà és de 0,1 a 0,3 µg, i encara és inferior en toxines com la E, que s'activen per l'acció dels enzims proteolítics pancreàtics. La

ingesta de 0,1 g d'aliment que contingui toxina botulínica és suficient per ocasionar el quadre clínic característic.

Totes les persones són susceptibles de patir una toxiinfecció alimentària per aquest microorganisme.

Període d'incubació i transmissibilitat

Els símptomes neurològics de botulisme acostumen a aparèixer entre 8 i 36 hores després d'haver menjat l'aliment contaminant, encara que també s'han descrit casos d'inici més precoç (2 h), i d'altres que han trigat fins a vuit dies a aparèixer.¹⁰¹ No es coneix l'existència de casos secundaris.

Manifestacions clíniques

Hi ha una gran diversitat de formes de presentació del botulisme, que va des de formes lleus, que poden passar sense diagnosticar-se, fins a formes greus amb elevada mortalitat.¹⁰⁵

Només una tercera part dels pacients intoxicats per la toxina A o B tenen nàusees i vòmits; són molt més freqüents els símptomes digestius quan està involucrada la toxina E. Els símptomes que apareixen en primer lloc solen ser la debilitat, el cansament i el mareig. A causa de la interrupció de la transmissió colinèrgica es produeix sequedat de la boca i la faringe, que persisteix encara que el pacient begui líquids, i arriba a ocasionar mal de gola. Pel mateix mecanisme es poden produir constipació, ili abdominal i retenció urinària.

Posteriorment apareixen símptomes com diplopia, visió borrosa, fotofòbia, disfonia, disàrtria, disfàgia i paràlisi flàccida de les extremitats i de la musculatura respiratòria, que pot arribar a produir aturada respiratòria i mort. Totes aquestes afectacions tenen caràcter simètric. El pacient és conscient, orientat, afebril, amb hipotensió postural i midriasi.

La letalitat és variable, se situa entre el 10 % i el 20 %.¹⁰⁶ El diagnòstic diferencial s'ha de fer amb altres malalties que causen paràlisi flàccida.^{100,101}

Diagnòstic microbiològic

Davant de la sospita d'un cas de botulisme cal investigar la presència de toxina botulínica a la sang, la femta, el contingut gàstric i la presència del microorganisme a la femta, ja que *C. botulinum* s'aïlla molt excepcionalment en femta de persones que no pateixen la malaltia.

La constatació de la toxina o el microorganisme als aliments és una dada indirecta per al diagnòstic de la malaltia, però permet determinar l'aliment involucrat. S'ha de recollir, doncs, tot aquest material clínic (40-50 ml de sang, 20-50 g de femta i 20-50 ml de vòmits) i els aliments sospitosos, i traslladar-los a un laboratori que disposi de les tècniques adequades. La

toxina es pot detectar mitjançant la inoculació intraperitoneal en el ratolí. Aquesta és una prova molt sensible i els resultats es poden obtenir entre 12 i 72 hores. També s'utilitzen amb caràcter experimental tècniques immunològiques (enzimoimmunoassaig i immunoelectroforesi).¹⁰⁰

Tractament

El tractament prioritari és el que s'adreça a corregir la insuficiència respiratòria i l'ili. El tractament específic es fa amb l'administració de sèrum antibotulínic polivalent (A, B, E) tan aviat com es pugui. A causa de la persistència de la toxina a la sang durant períodes prolongats (30 dies), el sèrum s'ha d'administrar encara que sigui tardanament. Abans de fer-ho, però, s'ha de recollir sang per al diagnòstic. Òbviament, els antibiòtics no tenen lloc en el tractament primari d'aquesta malaltia.¹⁰⁰

3.1.11 *Vibrio cholerae*

El gènere *Vibrio* inclou 12 espècies, de les quals algunes produeixen gastroenteritis per diferents mecanismes patogènics i altres infeccions diverses. El gènere està format per bacils gramnegatius que presenten característicament forma de coma. Són mòbils i el seu hàbitat natural el constitueix el medi aquàtic marí i els estuaris de tot el món, en especial en aigües calentes (temperatures superiors a 17 °C – 20 °C). S'aïllen durant els mesos càlids de l'estiu amb més freqüència de mostres de peix i marisc. Són anaerobis facultatius i oxidasa positius. Fermenten la glucosa produint àcid però no gas. Els vibrions poden ser halotolerants, quan poden créixer en presència de ClNa a concentracions elevades, o halòfils quan necessiten obligatòriament concentracions elevades de ClNa per créixer.¹⁰⁶

Les espècies causants d'enteritis són *Vibrio cholerae* i *V. parahaemolyticus*. Recentment s'hi ha implicat també *V. fluvialis*, *V. hollisae* i *V. mimicus*, però el seu paper enteropàtogen ha estat menys documentat i en tot cas són molt menys freqüents.

L'espècie *V. cholerae* inclou dos grups patogènics: el representat pels serogrupos O1 i O139, que produeixen toxina colèrica i causen el còlera, i la resta de serogrupos, que causen enteritis de pronòstic benigne per altres mecanismes.

Totes les espècies esmentades i d'altres, com *V. vulnificus*, *V. furnissii*, *V. alginolyticus* i *V. damsela*, poden causar infeccions superficials, cutànies, òtiques, conjuntivals i excepcionalment sèpsia.

V. cholerae és la causa del còlera. Dintre d'aquesta espècie definida per criteris taxonòmics convencionals (genètics i metabòlics) es poden diferenciar més de 200 serogrupos segons les diferències de l'antigen somàtic O.

Només les soques del serogrup O1 i O139 produeixen regularment la toxina colèrica que causa la malaltia. La majoria de les soques dels altres sero-

grups causen enteritis benigna no toxigènica, probablement per mecanisme invasor, i no causen epidèmies.

El còlera es pot definir com una enteritis secretora causada per l'exotoxina colèrica, que és, en una proporció elevada de les persones afectades, molt greu com a conseqüència de l'abundant diarrea, i pot causar importants epidèmies o pandèmies.

Des de 1817 s'han produït al món set pandèmies de còlera degudes a *V. cholerae* O1; al final de 1992 va aparèixer la soca de *V. cholerae* O139, que actualment és responsable d'epidèmies i que podria arribar a ser l'origen de la vuitena pandèmia colèrica.^{10,11,107-109}

Aquestes característiques fan que el còlera sigui una important malaltia que comporta, en aparèixer com a epidèmia, greus problemes de salut pública que requereixen un enfocament preventiu i terapèutic específic.

El serogrup O1 es divideix en dos biotips: el clàssic i l'El Tor, que és el més freqüent i el responsable de les pandèmies més recents. Els dos biotips es poden diferenciar per la producció d'hemòlisi, per l'hemoaglutinació, el fagotipat, la sensibilitat a la polimixina B i per la reacció de Vogues-Proskauer. També es poden diferenciar mitjançant la determinació dels gens *tcpA* (biotip clàssic) i *rtxC* (biotip El Tor).¹⁰⁸

El serogrup O1 té tres antígens, A, B i C, d'expressió variable segons les soques. Les soques anomenades Ogawa produeixen els antígens A i B, i una petita quantitat de l'antigen C, mentre que les soques Inaba produeixen només antígens A i C. Un tercer serotip, el Hikojima, produeix els tres antígens però és inestable i rar.¹⁰⁸

En l'estudi del fagotipat hi ha 145 fagotips per *V. cholerae* O1¹¹⁰ i 5 per el O 139.¹¹¹

Mitjançant l'estudi d'isoenzims (*multilocus enzym electroforesis*, MLEE) es pot diferenciar entre les soques del biotip clàssic i les de l'El Tor, i permet agrupar les soques del biotip El Tor en 4 grups clonals majors o tipus electroforètics (ET) que es localitzen en amples àrees geogràfiques. Se'n coneixen el clon Austràlia (ET1), el clon de la costa del Golf (ET2), el clon de la setena pandèmia (ET3) i el clon de Llatinoamèrica (ET4).¹⁰⁸

Per ribotipat se'n poden distingir 7 diferents ribotips per a les soques de *V. cholerae* O1 biotip clàssic, 20 per a *V. cholerae* O1 biotip El Tor, i 6 per a les soques de *V. cholerae* O139.¹⁰⁸

Totes aquestes tècniques que es fan servir per a estudis d'epidemiologia molecular demostren que hi ha en circulació moltes soques de *V. cholerae*, però que la majoria de brots són produïts per un nombre restringit de clons. El còlera presenta una marcada estacionalitat i tots els casos es concentren en els mesos d'estiu.¹¹

Reservori i font d'infecció

Estudis recents demostren que *V. cholerae*, incloses les soques O1 i O139, és habitant normal de la superfície de l'aigua salobrosa, i sobreviu i es multiplica al zooplàncton i al fitoplàncton de manera totalment independent de les infeccions humanes. La formació d'un biofilm i el fet que estigui en una situació viable, però no cultivable, en resposta a una deprivació de nutrients, pot facilitar la seva persistència en el medi ambient aquàtic durant els períodes interepidèmics.^{10,108}

Les soques ambientals aïllades de zones distants de les regions amb infecció generalment no presenten els gens que codifiquen els factors de virulència.

Quan els éssers humans pateixen la malaltia, *V. cholerae* es troba a les femtes, que poden contaminar els aliments i l'aigua. Es produeix un increment dels nivells del microorganisme al medi ambient i s'inicia el cicle epidèmic.

La infecció es produeix a través de la ingesta d'aigua contaminada amb matèria fecal. També, i més sovint als països desenvolupats, els aliments contaminats i consumits crus o poc cuits poden vehicular la malaltia. Hi poden estar implicats el peix, el marisc, l'arròs cuit, la carn de porc, la llet de coco congelada, la verdura i la fruita. Una característica important és que aquests aliments han de tenir un pH neutre. La possibilitat que els aliments amb pH àcid transmetin la malaltia és molt baixa.^{10,112}

Pervivència als aliments

V. cholerae O1 té probablement una persistència perllongada als aliments. La cocció del marisc redueix, però no elimina, el risc d'infecció pel microorganisme. *V. cholerae* es pot aïllar en crancs contaminats que han estat bullits durant 8 minuts o cuits al vapor durant 25 minuts.¹¹²

Patogènia

La patogènia del còlera és un procés multifactorial que implica diferents factors de virulència que promouen de forma coordinada la colonització del microorganisme i la producció de la toxina.

La mobilitat del bacteri ajuda a travessar el moc que cobreix la mucosa intestinal, i com que la concentració dels vibrions ràpidament aconsegueix nivells de 10^7 a 10^8 cèl·lules, aquests microorganismes s'uneixen íntimament al rivet en raspall de la mucosa intestinal i l'enterotoxina pot ser alliberada. La mucosa intestinal roman intacta sense signes d'inflamació.¹⁰⁸

Després de travessar la barrera àcida de l'estómac té lloc la colonització del budell prim per *V. cholerae* a través de fimbries i estructures proteiques filamentoses anomenades *pilus* coreguladors de la toxina (TCP) que es tro-

ben a la paret bacteriana i que s'uneixen als receptors de les cèl·lules de la mucosa intestinal. D'altres factors de colonització, com les hemaglutinines resistents a la mannososa i fucosa, les hemaglutinines sensibles a la mannososa i algunes proteïnes de membrana externa, no es coneix quina és la seva participació exacta en la patogènia de *V. cholerae*.¹⁰⁸

La toxina colèrica és una proteïna de 84000 KDa constituïda per cinc subunitats B i una subunitat A. Les subunitats B s'uneixen als receptors del gangliòsid GM1 a la mucosa del budell prim i la subunitat A és transportada a l'interior de la cèl·lula de l'enteròcit, on activa l'adenilat ciclase. Aquesta activació induïx un increment de l'AMP cíclic, seguit d'un augment de la secreció del clor i d'una inhibició de l'absorció del clorur sòdic, que provoca una sortida massiva de fluid a la llum intestinal. El volum secretat sobrepassa la capacitat d'absorció del budell, i apareix una diarrea aquosa que conté una gran quantitat de sodi, clor, bicarbonat i potassi, però poques proteïnes i cèl·lules sanguínies. La toxina colèrica també inhibeix l'absorció d'aigua al budell gruixut.^{10,108}

Els estudis moleculars han evidenciat la presència d'elements genètics importants que permeten diferenciar entre el *V. cholerae* patògen i el no patògen. Es tracta de l'element genètic CTX, que és el genoma d'un bacteriòfag lisogènic portador de gens que codifiquen la toxina colèrica i l'illa de patogenicitat del vibrí (VPI), que conté els gens relacionats amb la colonització intestinal (TCP). A l'interior de la cèl·lula de *V. cholerae* el CTX pot existir com un episoma replicatiu o com un pròfag integrat en el cromosoma bacterià.^{108,112}

Dosi infectant i població susceptible

Estudis realitzats en persones voluntàries mostren que els aliments, pel seu efecte tampó, poden reduir la dosi infectant. La ingesta de 10^5 - 10^6 microorganismes en un aliment és suficient per produir la malaltia, i calen dosis molt superiors (10^8 - 10^{11} ufc) en l'aigua per ocasionar-la.^{10,11}

A les zones endèmiques la malaltia es presenta amb unes taxes d'atac més altes en infants de 2 a 4 anys, mentre que a les zones no endèmiques les taxes d'atac són similars en totes les edats.

Els factors que predisposen a la hipoclorhídria, com la malnutrició, la gastrectomia i els antiàcids, també augmenten la susceptibilitat a la malaltia.¹¹ La gastritis atròfica i la hipoclorhídria associada a una infecció crònica per *H. pylori* predisposa a un risc superior de patir un còlera greu.¹¹³

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació oscil·la de 6 hores a 5 dies; habitualment és de 2 a 3 dies.¹¹

El període de transmissibilitat es perllonga pocs dies després que la malaltia estigui guarida. Les femtes d'un pacient amb còlera contenen una alta concentració de vibrions, més de 10^8 bacteris/g, i per tant són molt infeccioses. Després de la desaparició de la simptomatologia, els pacients que no s'han tractat amb antibiòtics poden continuar eliminant vibrions entre una i dues setmanes.^{10,108}

Els portadors sans durant llargs períodes de temps són extremadament rars i no tenen importància en la transmissió de la malaltia. Aquests portadors asimptomàtics s'acostumen a identificar més comunament entre familiars de persones amb malaltia aguda. En diferents estudis la taxa de portadors sans en aquest grup oscil·la entre el 4 % i el 22 %.^{10,108}

Manifestacions clíniques

Els símptomes són generalment d'aparició brusca i es caracteritzen per diarrea aquosa i vòmits. Les femtes de color gris pàl·lid tenen l'aspecte d'aigua d'arròs i fan pudor de peix. En el còlera greu la quantitat de diarrea pot arribar, ràpidament, a 500-1.000 ml/h, cosa que provoca una greu deshidratació. Bastants pacients presenten, també, signes respiratoris d'acidosi metabòlica.¹⁰⁸

La pèrdua de fluids pot ser tan ràpida que el pacient pot estar en risc de mort durant les primeres hores de l'inici de la malaltia, i la majoria de les morts es produeixen el primer dia.

Diagnòstic microbiològic

Es fa per cultiu de la femta al medi de tiosulfat, citrat, sals biliars, sacarina (TCBS) i per enriquiment en aigua peptonitzada alcalina, que després de 6 a 12 hores d'incubació es resembra en TCBS. Al voltant de 18-24 hores es poden observar a les plaques de cultiu colònies prou desenvolupades de color groc que permeten la seva manipulació. L'aglutinació s'ha de fer a partir de subcultius en mitjans no selectius, l'aglutinació a partir d'un medi de cultiu selectiu com el TCBS només es pot tenir en consideració quan la soca no és autoaglutinable i, en tot cas, només tindrà un valor predictiu.¹⁰⁶

Un test ràpid consisteix en l'examen amb microscopi de camp fosc d'un muntatge en fresc de les femtes líquides per visualitzar la mobilitat característica del microorganisme que s'inhibeix en presència dels antisèrums O1 o O139.

Tractament

Sense tractament la mortalitat per còlera greu pot ser del 50 %; ara bé, el tractament és molt efectiu i senzill, i es basa, en principi, a reposar ràpidament els fluids perduts. S'han de corregir, també, l'acidosi metabòlica i

el dèficit de potassi, i s'ha de mantenir una reposició de fluids continuada per substituir les pèrdues de líquids que es vagin produint.

Per a la rehidratació oral hi ha una fórmula molt efectiva que es prepara afegint a 1 litre d'aigua 2,6 g de clorur sòdic, 2,9 g de citrat trisòdic, 1,5 g de clorur potàssic i 13,5 g de glucosa.

El tractament antimicrobià es pot realitzar amb tetraciclines, i si no són efectives es pot utilitzar el cotrimoxazole, l'eritromicina, la ciprofloxacina i l'azitromicina. Les quinolones tenen una activitat antimicrobiana excel·lent davant *V. cholerae*, però ja s'han comunicat casos produïts per soques resistents. Els antibiòtics escurcen la duració de la diarrea i el període de portador (taula 13). L'ús profilàctic dels antibiòtics no és cost efectiu.

***Vibrio cholerae* no O1 ni O139**

Les soques de *V. cholerae* que no aglutinen amb els antisèrums O1 i O139 s'anomenen *V. cholerae* no O1 i no O 139. Prèviament s'havien anomenat vibrions no aglutinables (NAG).

Aquests vibrions es troben formant part de la flora bacteriana normal de les zones marines i els estuaris més sovint que el *V. cholerae* O1 i O139 fins i tot en èpoques d'epidèmies.¹⁰

El mecanisme de patogenicitat és desconegut però se sospita de l'existència d'un mecanisme invasiu i de la producció d'una enterotoxina al budell prim. Les soques que presenten una càpsula de naturalesa polisacàrida sembla que estan més relacionades amb la producció de sèpsia.^{11,112}

Aquests serogrups causen enteritis benigna i molt infreqüentment s'associen amb petits brots de malaltia diarreica.¹¹⁴

La malaltia es produeix durant els mesos càlids, per ingesta de marisc cru o poc cuit. La dosi infectant és alta, més de 10⁶ organismes són necessaris per produir malaltia. El període d'incubació és de 48 hores i la diarrea, els còlics abdominals i la febre són els símptomes predominants. Els vòmits i les nàusees es presenten en el 25 % dels casos. També el 25 % dels pacients presenten sang i moc a les femtes. En alguns casos la diarrea és greu i pot durar fins a 6 o 7 dies. Les persones malaltes de cirrosi o les immunodeprimides poden presentar complicacions greus com la sèpsia.¹¹

El diagnòstic de la infecció per *V. cholerae* NAG es fa per cultiu de la femta o de la sang en el cas de pacients amb sèpsia.

En el tractament s'han de tenir en compte les mesures de rehidratació. L'administració de tetraciclines disminueix la gravetat i la duració de la malaltia, no obstant això la diarrea s'autolimita al voltant dels 7 dies d'iniciada la simptomatologia.¹¹

3.1.12 *Vibrio parahaemolyticus*

Es va aïllar per primera vegada l'any 1950. De llavors ençà s'han descrit nombrosos brots que presenten una major incidència a països del sud-est asiàtic i de la costa del Pacífic als EUA, la qual cosa està probablement en relació amb els hàbits de consum de peix cru o no prou cuit. Al Japó se li atribueix entre el 60 % i el 75 % de les toxiinfeccions alimentàries d'etiologia coneguda.¹¹⁵

V. parahaemolyticus és halòfil i per créixer li calen concentracions de clorur sòdic d'entre l'1 % i el 8 %. S'ha subdividit en diversos serotips segons els 12 antígens somàtics (O) de naturalesa lipoproteica i els 59 antígens capsulars (K) de naturalesa polisacàrida. Els diferents serotips es localitzen en diferents àrees geogràfiques. Recentment s'ha detectat un nou grup clonal amb potencial pandèmic que inclou soques dels serotips O3:K6, O4:K68 i O1:KNT.^{10,112}

Els brots de toxiinfecció alimentària per aquest microorganisme són més freqüents durant els mesos càlids de l'any. Això pot reflectir que hi ha més oportunitats de multiplicació del microorganisme en els aliments incorrectament refrigerats, així com una prevalença superior dels microorganismes a l'ambient durant aquesta època, ja que en els mesos freds, quan la temperatura de l'aigua de mar és inferior a 14 °C, els organismes no hi estan presents, encara que sí que es poden trobar en els sediments; quan pugen les temperatures els microorganismes són alliberats des del sediment, s'adhereixen al plàncton i prolifereixen a l'aigua.¹¹⁶

Reservori i font d'infecció

V. parahaemolyticus és un microorganisme d'hàbitat marí. El reservori natural el constitueixen les aigües costaneres i els estuaris, particularment els seus sediments i el plàncton d'arreu del món. Es troba també en moltes espècies de la fauna marina com els peixos, els mol·luscs i els crustacis.

La transmissió d'aquest microorganisme sembla que es produeix exclusivament per consum dels aliments, habitualment peix, mol·luscos (cloïsses, ostres) i crustacis crus (llagostes, gambetes, crancs), insuficientment cuits o cuits però contaminats posteriorment. De vegades poden ser vehicle de transmissió altres tipus d'aliments per l'existència d'una contaminació encreuada.

Aquest microorganisme no s'ha aïllat en persones sanes i s'accepta, per tant, que no hi ha portadors asimptomàtics. Tampoc no hi ha evidència que els manipuladors d'aliments puguin ser la font d'infecció en els brots de toxiinfecció alimentària.¹¹

Pervivència als aliments

V. parahaemolyticus no prolifera, però sobreviu, a temperatures inferiors a 15 °C. Pot sobreviure durant alguns dies a temperatures de refrigeració i durant mesos a temperatures de congelació. Cal assegurar una cocció correcta dels aliments per a la seva inactivació.

La FDA recomana coure al vapor les ostres, les cloïsses i els musclos durant 4 a 9 minuts; fregir les ostres durant 10 minuts a 375 °C o coure-les al forn durant 10 minuts a 450 °C. Un escalfament rigorós del marisc, de manera que s'aconsegueixi una temperatura interna d'almenys 60 °C durant alguns minuts inactiva els vibrions patògens.

Una gran varietat d'espècies alimentàries, olis de diferents herbes, la salsa de tomàquet i alguns àcids orgànics presenten una activitat bactericida. La irradiació i la pressió hidrostàtica alta també redueixen el nombre de vibrions. El procés de depuració dels bivalves elimina les salmonel·les i els colibacils però no els vibrions.¹⁰

Patogènia

Sembla evident que en la patogènia de *V. parahaemolyticus* intervenen diferents factors de virulència. El més conegut i més ben estudiat ha estat l'hemolisina directa termoestable (TDH) lligada al fenomen de Kanagawa, consistent en l'aparició d'hemolisina beta dels eritròcits humans al voltant de les colònies del microorganisme sembrat en l'agar Wagatsuma.

Aquesta hemolisina termoestable codificada pel gen *tdh* ha pogut ser purificada i caracteritzada com una proteïna citotòxica (45.000 daltons) que presenta cardiotropisme, un fort efecte letal sobre els ratolins i una activitat d'acumulació de fluids a l'ili lligat del conill.

La majoria dels aïllaments en clínica són Kanagawa positius, mentre que el 99 % dels aïllaments del medi ambient són Kanagawa negatius. Això va fer creure, fins fa un temps, que només les soques productores de l'hemolisina (*Kanagawa positives*) eren enteropatògenes per a l'ésser humà; tot i això, en l'actualitat ja s'han descrit casos de toxiinfeccions alimentàries produïdes per soques de *V. parahaemolyticus* Kanagawa negatives. S'ha demostrat la presència d'altres factors de virulència com altres hemolisines i adhesines.^{10,115}

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectant se situa entre 10⁵ i 10⁷ microorganismes. El nombre de microorganismes presents al peix i el marisc normalment no sobrepassa la quantitat de 10⁴ ufc, per tant prèviament a la ingesta d'aliments contaminats aquests han de romandre un temps a temperatura ambient. El temps de multiplicació de *V. parahaemolyticus* és de 8 a 9 minuts a 37 °C, i de 12 a 18 minuts en el marisc. Aquesta multiplicació ràpida permet arribar

amb rapidesa a aquestes concentracions infectants. En els casos de tractament amb antiàcids la dosi infectant és més petita.^{10,11}

Totes les persones són susceptibles de patir aquesta infecció.

Període d'incubació i transmissibilitat

En general, la mitjana del període d'incubació és de 15 hores, però pot variar de 4 a 96 hores. En les infeccions per soques Kanagawa negatives el període d'incubació és més llarg que en les infeccions produïdes per soques positives.¹¹

No es coneix la transmissió de persona a persona.

Manifestacions clíniques

La simptomatologia pot variar de formes lleus a quadres disenteriformes greus. Es caracteritza per diarrea aquosa i dolor abdominal, en la majoria dels casos amb presència variable de nàusees, vòmits, cefalea i febre. En la meitat dels casos no és infreqüent la diarrea amb sang. La mitjana de la durada de les manifestacions clíniques és de 2,5 dies, però pot oscil·lar entre 2 i 10 dies.¹¹⁷⁻¹¹⁸

Diagnòstic microbiològic

El transport de la femta s'ha de fer en condicions adequades. L'examen directe de la femta no aporta dades específiques per al diagnòstic, que es fa per cultiu en el medi de tiosulfat, citrat, sals biliars, sacarosa (TCBS) incubat a 37 °C, generalment entre 24 i 48 hores, on es desenvolupen colònies característiques. També es pot utilitzar l'enriquiment en aigua peptonitzada hipersalina.¹⁰⁶

La identificació del microorganisme es fa segons proves metabòliques i de tolerància a la sal amb diferents concentracions de ClNa (0 % - 10 %). Per a l'estudi de la producció de l'hemolisina s'empren les plaques d'agar Wagatsuma, que s'incuben durant 24 hores a 37 °C.¹¹⁵

Tractament

En la majoria dels casos no és necessari un tractament específic i són suficients les mesures de suport, incloent-hi la hidratació si cal.

El tractament antibiòtic no escurça la duració dels símptomes ni l'excreció del microorganisme, però en casos de diarrea persistent (duració superior a 5 dies) es pot fer amb tetraciclins o quinolones.¹¹²

3.1.13 *Aeromonas* i *Plesiomonas*

Aeromonas

Els membres del gènere *Aeromonas* són bacils gramnegatius, no esporulats, aerobis i anaerobis facultatius.

Originàriament es considerava que el gènere *Aeromonas* pertanyia a la família *Vibrionaceae*, que incloïa els gèneres *Vibrio*, *Photobacterium* i *Plesiomonas*. Els estudis d'hibridació DNA-DNA i les anàlisis de seqüenciació rRNA 5S o rRNA 16S van demostrar que el gènere *Aeromonas* no tenia un origen filogenètic comú als altres gèneres de la família *Vibrionaceae*, cosa que permetia la creació de la nova família *Aeromonadaceae* (1986).¹¹⁹

El paper de les espècies d'*Aeromonas* en la gastroenteritis està sotmès a debat. La detecció d'un mecanisme de patogenicitat enterotoxigènica en diferents soques d'*Aeromonas* sustenta la relació etiològica entre aquest bacteri i la malaltia diarreica. D'altra banda, l'escàs nombre d'estudis cas-control i l'existència de portadors intestinals asimptomàtics, així com el fet que és relativament freqüent l'associació d'*Aeromonas* amb altres enteropatógens en els cultius de femta (10 % - 15 %),¹²⁰ posen en dubte la seva enteropatogenicitat. El fet que no hi hagi brots de gastroenteritis ben documentats des del punt de vista epidemiològic atribuïts al gènere *Aeromonas*, i que no es compleixin els postulats de Koch (falta d'un model animal) dóna suport a la teoria dels oponents a l'esmentada relació etiològica.

Dintre del gènere *Aeromonas* s'accepta l'existència de 16 espècies, algunes de les quals tenen diferents subespècies o biovars. D'aquestes, només cinc es consideren patògenes per a l'ésser humà, i un percentatge superior al 85 % dels aïllaments clínics s'agrupen en tres d'elles: *A. hydrophila*, *A. caviae* i *A. veronii* bv. Sobria.¹²¹

En relació amb l'antigen O, es considera que el gènere *Aeromonas* conté 96 serogrupos, dels quals els més freqüents són el O34, el O11 i el O16; ara bé, cada espècie és serològicament heterogènia i inclou més d'un serogrup, i un serogrup es pot trobar en més d'una espècie.

Aquest microorganisme s'ha aïllat com una causa de diarrea del viatger en un 2 % dels pacients.

És més freqüent als mesos d'estiu.

Reservori i font d'infecció

Les aeromonas són de distribució mundial, i poden causar diverses malalties en una gran varietat d'animals de sang freda (peixos, rèptils, amfibis) i calenta. No es troben com a components de la flora microbiana intestinal normal de l'ésser humà, però sí que es poden trobar com a component menor de la flora d'animals com porcs, vaques, bous i aus de corral.¹²²

Les espècies d'*Aeromonas* són ubiqües al medi aquàtic, la seva presència és pràcticament constant en tots els sistemes aquosos. S'ha aïllat en aigua dolça de llacs i rius i en ambients marins, però només en aigües amb un contingut salí baix (0 % - 4 %). En aigües residuals es troba en concentracions molt elevades. La seva concentració també augmenta quan la temperatura ambient supera els 20 °C i baixa quan la temperatura és inferior a 5 °C.^{120,123}

També s'han detectat *Aeromonas* a l'aigua de beguda, a les plantes de tractament, als sistemes de distribució, i fins i tot en als subministres d'aigua de l'hospital i al terra.¹²⁰

La majoria d'espècies d'*Aeromonas* associades a les infeccions humanes es troben en una gran varietat d'aliments, carn (vacca, porc i be), peix, marisc, verdures i productes làctics, i la seva contaminació té lloc a través dels animals portadors intestinals, les mosques o les aigües contaminades.¹²³

L'ésser humà es contagia fonamentalment per la ingesta d'aliments contaminats i per la transmissió persona-persona.

Pervivència als aliments

Aeromonas és bastant sensible al pH baix (inferior a 5,5) i no creix bé en aliments amb un contingut del 3 % al 3,5 % de ClNa i valors de pH per sota de 6,0 quan s'han conservat a baixes temperatures. Aquests microorganismes són més sensibles a la calor que altres patògens com *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, i *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. En aigua de peptona les soques d'*Aeromonas* moren després de 2 minuts a 55 °C. Són tan sensibles als desinfectants, inclòs el clor, com altres bacteris gramnegatius.¹²²

Patogènia

Els factors de virulència actuen seqüencialment per donar lloc que el bacteri colonitzi, penetri, es multipliqui i lesioni els teixits.

Mitjançant els flagels polars i laterals, els *pili* i les proteïnes de la membrana externa, els bacteris s'adhereixen a altres bacteris o a la cèl·lula de l'hoste.¹²¹

Recentment s'han identificat tres enterotoxines molt relacionades amb la producció de diarrees: una enterotoxina citotòxica, codificada pel gen *act* que té també una acció hemolítica, i dues enterotoxines citotòniques, una de termolàbil (Alt) i una altra de termoestable (Ast), que estan codificades pels gens *alt* i *ast* respectivament i que poden actuar sinèrgicament per produir una diarrea greu.¹²⁴

També s'ha demostrat la presència del sistema de secreció de proteïnes extracel·lulars tipus III (SST3) en la majoria de soques d'*Aeromonas* aïllades en clínica humana. Aquesta estructura és freqüent en soques patògenes de bacils gramnegatius, cosa que suggereix que les soques d'*Aeromonas* tenen un potencial virulent comparable al d'altres enteropatògens.¹²⁵

Altres factors estructurals i enzimàtics (capa S, lipopolisacàrid, lipases, proteases i desoxiribonucleases) estan més relacionats amb malalties extraintestinals.

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectant d'aquests microorganismes és desconeguda. En estudis realitzats només es va produir diarrea en 2 dels 57 adults sans voluntaris que havien rebut una dosi de 10^4 - 10^{10} organismes productors d'enterotoxina.¹²²

Els factors de risc de l'hoste que s'han associat a les gastroenteritis per *Aeromonas* són l'hospitalització, haver rebut un tractament antibiòtic, l'alcalinització del pH gàstric, les malalties hepàtiques, i la presència de patologia intestinal (cirurgia gàstrica o de budell, neoplàsia de còlon, hemorràgia gastrointestinal i malaltia inflamatòria intestinal).

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és de 24 hores. Aquesta gastroenteritis normalment és autolimitada i es cura en menys d'una setmana. En més d'una tercera part dels pacients, la diarrea pot durar més de dues setmanes i s'han documentat casos en els quals ha persistit fins a 17 mesos.¹²²

S'ha demostrat la presència d'aquests microorganismes a les femtes de persones asimptomàtiques, i la seva prevalença oscil·la de menys de l'1 % al 9% en països desenvolupats, i fins al 30 % en països amb dèficits d'higiene.

Manifestacions clíniques

La malaltia gastrointestinal pot variar des d'una diarrea aguda fins a una malaltia crònica. En la gastroenteritis aguda les femtes són pastoses o líquides, amb absència d'hematies i leucòcits polimorfonuclears. Altres símptomes són dolor abdominal (60 % - 70 %), febre, vòmits (20 % - 40 %) i nàusees (40%). Les formes greus s'assemblen a la shigel·losi i els pacients presenten dolor abdominal i moc, sang i pus a les femtes.

Diagnòstic microbiològic

La majoria de les espècies del gènere *Aeromonas* són oxidasa positives, la qual cosa permet diferenciar-les dels membres de la família *Enterobacteriaceae*. Són resistents, amb escassíssimes excepcions, al factor vibriostàtic O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridina). La temperatura òptima de creixement de les soques humanes (mesòfiles) és d'entre 22 °C i 25 °C, i però poden créixer entre 10 °C i 42 °C.¹²⁰

En general les diferents espècies d'*Aeromonas* creixen bé en agar MacConkey, on algunes soques fermenten la lactosa i d'altres no. L'agar sang amb ampicil·lina (10-30 µg/ml) és útil per a l'aïllament de totes les espècies d'*Aeromonas*, llevat d'*A. trota*, que és sensible a l'ampicil·lina. En aquest agar totes les espècies d'importància en clínica humana són beta-hemolítiques. L'agar selectiu per a yersínies, format per cefsulodina, irga-

san, novobiocina (CIN) modificat (4 µg/ml de cefsulodina), és un excel·lent mitjà per a l'aïllament d'aquests microorganismes. En l'agar selectiu per a *Pseudomonas-Aeromonas* amb 100.000 UI/l de penicil·lina G sòdica (agar GSP) les colònies d'*Aeromonas* són de color groc, ja que en hidrolitzar el midó del medi s'acidifica.¹²⁰

L'enriquiment de les mostres clíniques en aigua de peptona alcalina (pH 8,6) augmenta les possibilitats d'aïllament d'aquests microorganismes.

La identificació del gènere i de les espècies de les soques aïllades es fa mitjançant proves bioquímiques.¹²⁶

Tractament

La gastroenteritis per *Aeromonas* generalment és autolimitada, i excepte en pacients immunodeprimits el tractament antibiòtic és innecessari.

Totes les soques d'*Aeromonas* són resistents a l'ampicil·lina llevat d'*A. trota*, que hi és sensible. Les fluoroquinolones han estat considerades el tractament d'elecció en les infeccions per *Aeromonas*, però no és aconsellable el tractament amb aquests antibiòtics quan les soques són resistents a l'àcid nalidíxic, i en cas de resistència s'han de fer servir altres fàrmacs alternatius, com són el trimetoprim-sulfametoxazole, les tetraciclins i les cefalosporines de tercera generació.¹²⁷

Plesiomonas

El gènere *Plesiomonas*, constituït per una única espècie *P. shigelloides* ha estat incorporat recentment a la família *Enterobacteriaceae* i està format per bacils gramnegatius aerobis i anaerobis facultatius oxidasa positius.¹²⁸

Se sospita que *P. shigelloides* és un bacteri enteropatogen, atesa la seva associació significativa, per estudis de cas control, amb gastroenteritis. Les evidències però son limitades.

El pic d'incidència d'infecció per *P. shigelloides* té lloc durant els mesos d'estiu, i el seu aïllament és més freqüent als climes tropicals i subtropicals.

Reservori i font d'infecció

Plesiomonas shigelloides es troba a l'aigua dolça i l'aigua de mar, principalment durant les èpoques caloroses; aquest microorganisme s'ha aïllat també en ambients aquàtics de climes freds, com al nord d'Europa.¹²²

P. shigelloides es troba al peix d'aigua dolça, al marisc i en molts altres animals, com vaques, cabres, porcs, gats, gossos, simis, garses, serps i gripaus.¹¹

La via de transmissió de la majoria de les infeccions humanes esporàdiques o epidèmiques té lloc per ingesta d'aigua contaminada o de peix cru. El microorganisme pot estar present en aigües de beguda no potables, en

aigües d'esbarjo, o en l'aigua utilitzada per rentar aliments que es consumeixen sense coure o que són només escalfats després de la cocció.¹¹

La gastroenteritis per *P. shigelloides* està relacionada amb la diarrea del viatger.

Pervivència als aliments

Moltes soques de *P. shigelloides* no creixen a una temperatura per sota de 8 °C. La seva temperatura òptima de creixement és de 38 °C a 39 °C, amb un màxim de 45 °C. La temperatura d'entre 42 °C i 44 °C s'ha recomanat per a l'aïllament de *P. shigelloides* de mostres del medi ambient, en les quals la presència d'*Aeromonas* i altres microorganismes pot ser un problema. S'han aïllat soques d'aquest microorganisme a partir d'aliments conservats durant anys a -20 °C.¹¹

P. shigelloides creix en pH d'entre 5 i 8, i és especialment susceptible a un pH baix. Les cèl·lules bacterianes moren ràpidament a un pH inferior o igual a 4.¹¹

La tolerància a la sal és similar a la d'*Aeromonas* (0 % - 5 %). *P. shigelloides* és extremadament susceptible a la modificació atmosfèrica de l'emmagatzematge (80 % de CO₂, sense O₂).¹²⁹

Patogènia

La patogènesi de *P. shigelloides* no és coneguda. Se sospita que el microorganisme pot ser toxigènic i a més invasiu.

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectant és alta, superior al milió d'organismes.^{11,122}

Totes les persones poden ser susceptibles a patir la infecció, però els lactants, els infants menors de 15 anys i els pacients amb malalties cròniques o immunodeprimits és més probable que presentin una malaltia de més llarga durada i amb complicacions. Els veterinaris, els cuidadors del zoo, els peixeters i els atletes d'esports d'aigua presenten risc de patir aquesta infecció.^{11,122}

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és de 20-24 hores després d'haver ingerit l'aigua o l'aliment contaminat.

Aquest microorganisme es troba com a membre de la flora intestinal de persones asimptomàtiques amb una freqüència del 0,2 % al 3,2 %.¹¹

Manifestacions clíniques

Els pacients poden presentar diarrea aquosa o diarrea amb sang, moc i leucòcits. La forma secretora pot persistir entre 1 i 7 dies, però es pot perllongar fins a 3 setmanes.¹²⁹⁻¹³¹

Diagnòstic microbiològic

Aquest microorganisme s'aïlla fàcilment de l'agar MacConkey, no creix en agar TCBS (tiosulfat, citrat, bilis, sacarosa), però creix bé i es pot aïllar també a partir de l'agar CIN (cefsulodin, irgasan, novobiocina).¹²⁸

P. shigelloides és un bacil gramnegatiu fermentador de la glucosa sense producció de gas, oxidasa positiu i susceptible al factor vibriostàtic O/129 (2,4 diamino-6-7 diisopropilpteridina). La identificació definitiva es fa mitjançant una bateria de proves bioquímiques.¹²⁸

Tractament

La majoria dels casos de gastroenteritis són autolimitats i només necessiten una rehidratació adequada. Els pacients greus requereixen un tractament antimicrobià que sembla que escurça la durada de la malaltia. *P. shigelloides* presenta una bona sensibilitat davant trimetoprim-sulfametoxazole, cefalosporines, quinolones i imipenem. La sensibilitat a tetraciclines i aminoglicòsids és variable.¹³¹

3.2. Virus

Els virus que causen gastroenteritis més sovint són els calicivirus, rotavirus, astrovirus i adenovirus. D'altres, com els coronavirus, torovirus i picobirnavirus, que han estat involucrats com a agents d'enteritis, són poc freqüents o la seva capacitat enteropatògena és dubtosa.

Per a les gastroenteritis víriques, en els països temperats es poden diferenciar dos models epidemiològics; les que es presenten de forma endèmica, amb un net predomini hivernal, i les epidèmies localitzades, que normalment tenen un origen comú de contaminació, com l'aigua i els aliments. Les primeres estan causades habitualment per rotavirus, calicivirus, astrovirus i adenovirus dels serotips 40 i 41. La causa principal de les segones són generalment calicivirus del gènere *Norovirus*.

Els virus entèrics tenen alguns aspectes en comú, com és l'elevada quantitat de virus eliminats a les femtes dels individus infectats, la seva capacitat de persistir en l'ambient i la baixa dosi infectant, cosa que els confereix una elevada capacitat de transmissió directa de persona a persona i mitjançant l'aigua i els aliments contaminats.

3.2.1 Caliciviridae

El primer calicivirus —que va ser també el primer virus causant de gastroenteritis identificat— va ser el virus de Norwalk, detectat l'any 1972 a les femtes d'un nen d'una escola de la població de Norwalk, a l'estat d'Ohio, on es va declarar un brot de diarrea. A partir d'aquell moment es van descriure molts altres agents, entre ells el virus Sapporo, l'any 1977.¹³²

La família *Caliciviridae* es caracteritza per tenir un genoma RNA poliadenilat de cadena senzilla i polaritat positiva d'unes 7,6 Kb dins d'una càpsida nua de simetria icosaèdrica d'uns 27-35 nm. Se'n distingeixen —segons l'estructura genòmica— dos gèneres, que contenen virus que afecten l'ésser humà, *Norovirus* i *Sapovirus*, que no són propagables *in vitro*, per la qual cosa la seva caracterització antigènica és minsa. Visualitzats al microscopi electrònic, els norovirus presenten una estructura rugosa sense una morfologia definida, mentre que els sapovirus presenten la morfologia distintiva dels calicivirus amb la característica estrella de David.¹³³

3.2.1.1 *Norovirus*

El genoma de *Norovirus* (abreviadament NoV per diferenciar-los de NV, que s'usa per al virus de Norwalk) s'estructura en tres pautes de lectura oberta (ORF). L'ORF1 és la més llarga i codifica les proteïnes no estructurals, entre les quals destaquen una heliocasa, una proteïna VPg, una proteasa i una polimerasa. L'ORF2 codifica les proteïnes estructurals de la càpsida. D'altra banda, l'ORF3 codifica una petita proteïna de funció desconeguda. Les proteïnes estructurals apareixen a partir d'un RNA subgenòmic corresponent a l'ORF2.¹³³

La classificació d'aquest gènere, que presenta una altíssima variabilitat genètica, es basa en seqüències de la regió de la polimerasa.¹³⁴ Així, el gènere *Norovirus* es divideix actualment en dos genogrups, I i II, i possiblement més endavant en tres. Les espècies prototipus del genogrup I són els virus de Norwalk, Desert Shield, Queens Arms, Winchester i Southampton. Per al genogrup II hi ha els virus de Hawaii, Lordsdale, Toronto, Mèxic, Melksham, Hillingdon, Grimsby i Snow Mountain. Cadascun d'aquests prototips representa filogenèticament un genotip. En total s'han descrit fins a l'actualitat 16 genotips de NoV que afecten éssers humans. Cal afegir que quan es disposi d'informació exhaustiva de la regió de la càpsida es podrà proposar un sistema de classificació que no necessàriament ha de coincidir amb el de la polimerasa. De fet, s'ha proposat en aquest sentit una classificació dels norovirus en cinc genogrups.

Aquesta enorme variabilitat es genera per mutacions puntuals causades pels errors propis de les RNA polimerases RNA dependents. Un segon mecanisme de generació de variabilitat és la recombinació entre diferents motlles de RNA que per coinfecció puguin haver entrat en una cèl·lula. D'altra banda, no es pot descartar la possibilitat d'una transmissió zoonòtica de norovirus.¹³⁵

Els norovirus són responsables de més del 90 % dels casos de gastroenteritis associats al consum d'aliments contaminats amb matèria fecal humana,¹³⁶ per la qual cosa la Unió Europea l'ha escollit, juntament amb el virus de l'hepatitis A, com a virus rellevant amb vista a un control específic de virus en aliments de risc.

Reservori i font d'infecció

L'ésser humà n'és l'únic reservori confirmat, malgrat que se sospita d'una zoonosi potencial. La transmissió per contacte directe de persona a persona és molt eficient i per tant freqüent. Els norovirus són els virus que es transmeten més freqüentment a través d'aliments, i molts tipus d'aliments i l'aigua han estat involucrats en la transmissió.^{137,138}

Els norovirus són excretats en quantitats molt elevades a la femta dels individus o animals infectats, i poden ser contaminants d'aigües i aliments. Cal destacar de forma especial entre aquests darrers els mol·luscs bivalves, especialment les ostres i les cloïsses, els fruits del tipus baia, com les maduixes i els gerds, i les hortalisses d'amanida.

Els manipuladors d'aliments que pateixen una infecció per norovirus són una font important de contaminació d'aliments.

Els virus poden romandre a les superfícies inertes o fomites, com taulells de cuina, parets, porcellana de sanitaris, llençols, paper higiènic o paper moneda. Algunes d'aquestes superfícies cal que siguin descontaminades amb productes desinfectants, com lleixiu domèstic al 10 %.

Els brots d'origen alimentari són més freqüents que els d'origen hídric.

Pervivència als aliments

Els norovirus, com els altres virus entèrics, com que són partícules no embolcallades presenten una elevada capacitat de persistència, que pot arribar a ser en alguns casos de mesos, molt superior a la dels bacteris vegetatius. Tots ells són resistents a pH àcid i la majoria poden resistir temperatures ambient durant períodes superiors als de la conservació o la caducitat dels aliments. Les temperatures baixes afavoreixen la persistència vírica i sobreviuen en aliments congelats.

Els virus entèrics en general són molt resistents a diferents desinfectants com el clor; es recomana en cas de contaminació d'aigües que la dosi de clor sigui de fins a 10 mg/l.

Patogènia

En la infecció per norovirus els enteròcits no es veuen afectats, però les microvellositats estan aplanades, tenen una activitat enzimàtica disminuïda i apareix una inflamació a la làmina *propria*. La diarrea podria estar causada per malabsorció, però no els vòmits, que solen ser predominants. La patogènia de la malaltia no es coneix amb precisió.¹³³

Dosi infectant

En els casos de què es disposa de dades, les mínimes dosis infectants poden ser de tan sols un virus. Formalment es reconeix que la dosi infectant és inferior a 100 virions.¹³³ Aquest fet, juntament amb les enormes xifres

excretades de virus i la seva alta persistència dóna una idea de la seva capacitat infecciosa i la seva transmissibilitat per vectors com l'aigua, els aliments o les superfícies inanimades contaminades amb matèria fecal humana.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació oscil·la entre 10 i 50 hores, amb un temps mitjà de 24 hores. La malaltia dura normalment unes 24-48 hores i l'eliminació del virus es pot perllongar fins a 48 hores després de la desaparició dels símptomes. Hi ha estudis que han mostrat que en alguns casos l'eliminació d'antigen es pot perllongar fins a 2 setmanes després de l'inici de la infecció en presència i absència de simptomatologia, però no se sap si correspon a partícules infeccioses.¹³³ La càrrega vírica arriba a ser de fins a 10^{13} virus/ml a la femta o 10^7 virus/ml al vòmit. Malgrat que la infecció és autolimitada, en infants immunodeprimits se n'ha descrit la persistència de símptomes, i l'eliminació de virus fins a vuit mesos.

Manifestacions clíniques

La simptomatologia principal de les gastroenteritis per calicivirus és diarrea aquosa, molt sovint acompanyada de vòmits que poden ser explosius. De vegades els vòmits són l'únic símptoma, i de fet la malaltia també es coneix amb el nom de "malaltia hivernal dels vòmits" (*winter vomiting disease*). Al voltant del 50 % de les persones afectades presenten febrícula; a vegades s'hi associen miàlgies i cefalees.

Es considera que cal sospitar que un brot està causat per norovirus per les dades següents: el període d'incubació és de 24 a 48 hores, els vòmits constitueixen el símptoma més predominant entre la majoria de les persones afectades; la malaltia no dura més de dos o tres dies i, finalment, hi ha un elevat nombre de casos secundaris.

Els calicivirus presenten una distribució mundial i afecten totes les franges d'edat, encara que hi ha una tendència del gènere *Sapovirus* a infectar infants de menys de quatre anys. Els brots es donen al llarg de tot l'any, però amb un pic hivernal.

Diagnòstic microbiològic

El diagnòstic microbiològic es fa per detecció d'antigen. Hi ha diverses tècniques comercialitzades d'ELISA, làtex, immunocromatografia i d'altres.

Les tècniques genètiques d'amplificació, en particular la RT-PCR, són molt més sensibles que les de detecció d'antigen.¹³⁹

Tractament

No hi ha un tractament específic davant d'aquestes infeccions víriques. L'evolució és habitualment benigna, però els casos greus poden requerir ingrés hospitalari per rehidratar i corregir altres trastorns hidroelectrolítics.

3.2.1.2 Sapovirus

El genoma dels virus del gènere *Sapovirus* conté només dues ORF. En aquest cas, l'ORF1 codifica les proteïnes no estructurals i també les proteïnes de la càpsida. Algunes soques presenten de forma excepcional una tercera ORF entre les dues anteriors, que codifica una proteïna de funció desconeguda.¹³³

Sapovirus es divideix, atenent a la seqüència de la regió de la polimerasa, en dos genogrups: el virus tipus del genogrup I és el virus Sapporo, i el del genogrup II, el virus London. Com en el cas dels NoV, cadascun d'aquests prototips representa filogenèticament un genotip. Hi ha, d'altra banda, la proposta de classificar els sapovirus basant-se en una seqüència de la càpsida, en cinc genogrups que en total contindrien nou genotips.¹³⁴

Els sapovirus tenen unes característiques de reservori, font d'infecció, pervivència als aliments i dosi infectant semblant als norovirus. Les manifestacions clíniques solen ésser encara més benignes que les dels norovirus. El diagnòstic es fa per procediments similars. No hi ha tractament específic i el tractament simptomàtic és semblant al de totes les enteritis víriques.

3.2.2. Rotavirus

Els rotavirus humans van ser descrits l'any 1973 i destaquen per ser la principal causa de gastroenteritis infantil. Als països temperats aquestes infeccions es donen en forma d'epidèmies hivernals i són causa d'un elevat nombre d'hospitalitzacions. En països en vies de desenvolupament són responsables d'una elevada mortalitat. Globalment, els rotavirus afecten més de 125 milions de persones l'any i causen prop de mig milió de morts.¹⁴⁰

El gènere *Rotavirus* s'inclou a la família *Reoviridae*. Els virions es mostren com a partícules nues de simetria icosaèdrica de 65-75 nm de diàmetre, formades per tres capes proteïques (*core* i doble càpsida) i un genoma de RNA bicatenari format per 11 segments. El nom rotavirus prové de la característica morfològica amb aparença de roda de carro al microscopi electrònic. El nucli estructural de la partícula (*core*) està format per les proteïnes VP1, VP2 i VP3, hi ha una càpsida interna formada per la proteïna VP6, i una càpsida externa formada per la glicoproteïna VP7 i la proteïna sensible a proteases VP4.¹⁴¹ Aquestes proteïnes de les càpsides són les emprades per a la classificació dels rotavirus. Així doncs, els rotavirus se separen en 7 serogrups antigènics (A-G) segons la proteïna VP6. Només dins dels serogrups A, B i C hi ha soques que infecten els éssers humans. El serogrup A és, però, el responsable de la majoria de gastroenteritis per rotavirus en nadons i individus joves, no solament en humans, sinó en quasi totes les espècies animals, amb les excepcions de rates i conills porquins.

El B s'ha detectat bàsicament a la Xina i afecta excepcionalment individus adults. El serogrup C afecta individus de totes les edats, i és un exemple de virus emergent en alguns llocs del món.¹⁴⁰

Dins del serogrup A, les proteïnes VP7 i VP4 determinen els serotips G i P, respectivament. Així, s'han descrit fins a 14 serotips G, dels quals 10 infecten humans, i 13 serotips P, dels quals 8 es troben en humans. Pel que fa a l'epidemiologia molecular, els genotips han substituït els serotips, amb una bona correlació entre genotips i serotips G i una menor correlació entre genotips i serotips P. D'aquesta manera, hi ha 15 genotips G i 20 genotips P. Aquesta discrepància és deguda a la manca de sèrums i reactius immunològics per als genotips addicionals. Les soques de rotavirus del serogrup A es defineixen, per tant, per combinacions G/P, i són les més comunes arreu del món les P[8]G1, P[4]G2, P[8]G3 i P[8]G4, i n'emergeixen d'altres com P[8]G9, P[6]G9 i P[4]G1.¹⁴⁰

La segmentació del genoma permet la generació d'aquestes combinacions, anomenades *reassortants* (reagrupacions) en cas de coinfeccions, i que són font d'una alta variabilitat, l'*antigenic shift* (canvi antigènic). Aquest quadre es complica encara més si la coinfecció es dona entre un virus humà i un virus animal, tenint en compte l'amplíssim espectre d'hostes dels rotavirus, que és un clar exemple de zoonosi. Addicionalment també es produeix la deriva antigènica, o *antigenic drift*, per mutacions puntuals com als altres virus RNA. Finalment, els rearranjaments del genoma també contribueixen de manera important a l'alta variabilitat dels rotavirus.¹⁴⁰ Tot plegat es tradueix en una elevada emergència de noves variants, tant geogràfiques com temporals, cosa que complica enormement les possibilitats d'àmplia cobertura de vacunes potencials.^{142,143} Cal dir, no obstant això, que ja es disposa de noves vacunes comercials, després que la primera vacuna autoritzada s'hagués de retirar perquè se li van atribuir invaginacions intestinals.

Els rotavirus afecten predominantment els infants fins a dos anys, però també poden afectar els adults, com s'ha demostrat en brots vehiculats per aigua o aliments.

Reservori i font d'infecció

Els rotavirus humans tenen l'ésser humà com a reservori; però s'ha demostrat la infecció d'infants amb soques animals i amb soques que resulten de reagrupacions entre virus humans i animals. Les soques de rotavirus, en general quan infecten un hoste que no és el seu natural, apareixen atenuades i mostren una baixa transmissibilitat. Tampoc s'han descrit brots associats al contacte amb animals.¹⁴⁰

Pervivència als aliments

Poden persistir en vegetals i altres aliments, tant a temperatura ambient com a la nevera, durant molts dies. Persisteixen viables durant el procés d'elaboració de formatges tous, i són viables a pH d'entre 3 i 10. Perden el 99% de la seva infectivitat després de 30 minuts a 50 °C.

Patogènia

La patogènia de la malaltia és molt complexa. Els rotavirus es multipliquen en els enteròcits al budell prim, als quals causen vacuolització i lisi, de manera que ocasionen descamació i atròfia de les vellositats amb malabsorció i diarrea. L'alteració en la producció de disacariidases pot ser un altre factor patogènic de la malabsorció.

Una proteïna no estructural del virus, la NSP4, es comporta com una enterotoxina i és capaç de causar per si sola la diarrea mitjançant un desequilibri iònic.¹⁴¹

Dosi infectant

La dosi infectant és molt baixa, i se situa entre 1 i 10 virions, que juntament amb l'elevada excreció explica l'alta transmissibilitat.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació mitjà és de 3 dies (entre 1 i 4 dies), i la simptomatologia sol durar de 4 a 6 dies, encara que en ocasions es pot perllongar fins a 12. La càrrega vírica en femta pot arribar a 10^{13} virus/ml. En malalts immunodeprimits l'excreció pot arribar a persistir durant 30 dies.¹⁴⁰

La via de transmissió més freqüent és la fecal-oral de persona a persona. S'ha descrit la possible transmissibilitat aèria. La transmissió per aigua i aliments, encara que es pot donar, no és freqüent.

Manifestacions clíniques

Els rotavirus provoquen una enteritis aquosa i febril amb vòmits. Els casos greus no són excepcionals i van associats a deshidratació, que pot requerir hospitalització. En infants immunodeprimits la diarrea es pot perllongar, i arribar a fer-se persistent, amb casos de dos anys de duració.¹⁴⁰

Diagnòstic microbiològic

Inicialment, el diagnòstic es va fer per microscòpia electrònica i després per immunomicroscòpia electrònica. Actualment es fa per detecció d'antigen en femta (ELISA i d'altres). Gradualment les tècniques d'amplificació molecular (RT-PCR) es van imposant.¹⁴⁴

Tractament

No hi ha un tractament específic. El tractament simptomàtic cal dirigir-lo fonamentalment a la rehidratació i a la correcció dels trastorns hidroelec-

trolítics. Quan els vòmits són intensos, la rehidratació oral és difícil, per la qual cosa cal ingressar la persona malalta a l'hospital.

3.2.3 Astrovirus

Els astrovirus constitueixen la família *Astroviridae*, i els pertanyents al gènere *Mamastrovirus* són els que afecten els mamífers. Van ser descrits per primer cop l'any 1975, en mostres de femta d'infants amb gastroenteritis aguda.¹⁴⁵

El seu nom prové de l'aspecte estelat que presenten al microscopi electrònic. Són partícules nues amb una mida de 28-41 nm i simetria icosaèdrica. El genoma està constituït per una molècula de RNA monocatenari de polaritat positiva, d'unes 7 Kb i consta de tres ORF. L'ORF1a i l'ORF1b codifiquen la proteasa i la polimerasa vírica respectivament, i l'ORF2 codifica les proteïnes estructurals mitjançant un RNA subgenòmic.¹⁴⁵⁻¹⁴⁸

Els astrovirus humans presenten una elevada variabilitat, com es pot comprovar per l'existència de vuit serotips, segons els antigens de la càpsida, i dos genogrups segons la regió ORF1a. Aquests dos genogrups són l'A i el B: el primer conté els serotips 1-5 i 8, i el segon els serotips 6 i 7. El serotip que ha estat aïllat més sovint és l'1, i són rars el 6 i el 7 encara que estan emergint al continent africà.¹⁴⁹ S'han descrit també virus recombinants.¹⁴⁵

Els astrovirus tenen una distribució mundial, amb un pic hivernal en països de clima temperat.¹⁴⁹ Els casos esporàdics afecten principalment infants. Al Regne Unit el 70 % de les criatures de tres anys tenen anticossos contra el virus. La infecció asimptomàtica és, per tant, probablement habitual. Se'n descriuen brots que afecten generalment els adults. També és molt comuna la transmissió nosocomial.

Reservori i font d' infecció

El seu reservori és l'ésser humà i la font d'infecció és la femta (transmissió de persona a persona) i l'aigua i els aliments contaminats naturalment o durant la seva manipulació.

Pervivència als aliments

Com altres virus entèrics, la seva pervivència als aliments és perllongada, i pot arribar a ésser de diverses setmanes. Tenen una resistència als agents físics i químics semblant a la del calicivirus (vegeu l'apartat 3.2.1).

Patogènia

Les cèl·lules intestinals (enteròcits) infectades es vacuolitzen, moren i es descamen. La replicació *in vitro* dels astrovirus s'associa a apoptosi, de la qual és responsable una proteïna codificada per l'ORF1a.^{146,147}

Dosi infectant

La dosi infectant és molt baixa, i probablement escassos virions són suficients per produir la malaltia.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és de 12-72 hores, i la infecció dura normalment entre tres i quatre dies, encara que, ocasionalment, es pot perllongar més temps, fins a 14 dies, durant els quals s'elimina el virus. Utilitzant tècniques d'amplificació genòmica se n'ha detectat l'eliminació fins a mesos després de curada la malaltia.¹⁵⁰

Manifestacions clíniques

Els astrovirus provoquen una diarrea aquosa moderada amb dolor abdominal i febre, els vòmits són infreqüents. Els malalts rarament requereixen hospitalització. El guariment a curt termini és la norma, encara que s'han descrit casos amb persistència de mesos, sobretot en persones immuno-deprimides, però també en pacients immunocompetents, infectats principalment pel serotip 3.¹⁵⁰

Diagnòstic microbiològic

El diagnòstic es fa per tècniques de detecció d'antigen en femta (ELISA i d'altres) o d'amplificació genòmica (RT-PCR).

Tractament

No hi ha un tractament específic. El tractament simptomàtic cal dirigir-lo fonamentalment a la rehidratació i la correcció d'altres trastorns hidroelectrolítics.

3.2.4 Adenovirus

A diferència dels virus entèrics fins ara descrits, els virus pertanyents a la família *Adenoviridae* tenen un genoma de DNA de doble cadena d'unes 30-45 Kb. La seva càpsida és nua, icosaèdrica i del voltant de 70-90 nm de diàmetre, i està constituïda per 252 capsòmers (dels tipus pentó 240 i del tipus hexó 12).¹⁵¹ Els adenovirus presenten un ampli espectre d'hostes. El gènere *Mastadenovirus* inclou els adenovirus que infecten els mamífers. S'han classificat en sis grups (subgèneres) en funció del patró d'hemaglutinació i en més de 50 serotips.¹⁵²

Diferents serotips produeixen diverses malalties a l'ésser humà incloent infeccions respiratòries molt diverses, conjuntivitis, cistitis i d'altres. Els serotips 40 i 41, que pertanyen al grup F, causen enteritis, encara que el serotip 2 i el 31 també s'hi han involucrat com a agents d'enteritis.¹⁵³

Les gastroenteritis per adenovirus es donen sobretot en infants menors de dos anys, encara que també afecten nens i nenes de més edat i persones adultes.

Les infeccions per adenovirus entèrics no tenen un clar patró estacional, presenten una incidència similar durant tot l'any.

Reservori i font d'infecció

L'ésser humà sembla l'únic reservori dels adenovirus que li causen malaltia. La principal forma de contagi és el contacte directe de persona a persona. No es coneix amb precisió, però, el mecanisme de transmissió del serotips enteropatògens.

A diferència del que s'esdevé amb altres virus causants de gastroenteritis, no hi ha proves de la implicació d'aigua o aliments en la transmissió d'infeccions per adenovirus.

Pervivència als aliments

No es coneix.

Patogènia

La patogènia dels adenovirus entèrics és poc coneguda. En alguns casos s'ha descrit adenitis entèrica i la seva infecció s'ha associat a invaginació del budell prim.

Dosi infectant

No es coneix.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació oscil·la entre 3 i 10 dies, amb una durada de la malaltia d'una setmana o més, i és superior a la d'altres agents vírics.

Manifestacions clíniques

La diarrea és la simptomatologia més freqüent, associada ocasionalment a vòmits i febre, i bastantes vegades a manifestacions respiratòries. Hi han moltes infeccions asimptomàtiques durant les quals s'elimina el virus.¹⁵³

Diagnòstic microbiològic

Els serotips 40 i 41 no es propaguen a les línies cel·lulars convencionals. El diagnòstic es fa habitualment per detecció d'antigen. No tots els reactius són específics per als serotips enteropatògens (40 i 41). La PCR és una eina poderosa per al diagnòstic d'adenovirus entèrics.

Tractament

No hi ha un tractament específic. El tractament simptomàtic cal dirigir-lo fonamentalment a la rehidratació i la correcció d'altres trastorns hidroelectrolítics.

3.3 Protozous

Tradicionalment, diversos protozous s'han associat a brots d'enteritis vehiculats per aigua o aliments. Les formes cístiques, que per a la majoria d'aquests protozous són la forma de transmissió, presenten una elevada resistència als agents físics i químics, cosa que facilita la seva pervivència a l'aigua i els aliments. La transmissió directa de persona a persona en alguns casos és molt eficient, per la qual cosa es poden produir brots epidèmics per aquest mecanisme.

3.3.1 *Giardia duodenalis*

És un protozou flagel·lat de l'ordre *Diplomonadida*. Les espècies del gènere *Giardia* són paràsits del tracte intestinal de pràcticament tots els vertebrats. N'hi ha més de 50 espècies descrites, encara que la majoria són de dubtosa validesa, atès que la seva descripció ha estat basada en la seva suposada especificitat d'hoste.¹⁵⁴ *Giardia duodenalis*, també anomenada *G. intestinalis* i *G. lamblia*, és l'única espècie paràsita de l'ésser humà i es troba també en un gran nombre de mamífers, tant domèstics com salvatges.

La similitud morfològica entre les espècies del gènere i la dificultat del cultiu *in vitro* han impedit interpretar la seva diversitat genètica en termes taxonòmics, especialment en el cas de *G. duodenalis*. En l'actualitat, l'aplicació de tècniques moleculars basades en l'amplificació i l'anàlisi de regions genètiques conservades ha permès elucidar les principals divisions genètiques de *G. duodenalis* (grups A a G). El grup A és de caràcter zoonòtic, paràsit d'éssers humans, gats, gossos, castors, cobais i bestiar de cria; el B, també de caràcter zoonòtic, és paràsit d'éssers humans, xinxilles, gossos, castors i rates; els C i D, de gossos; l'E d'animals de cria com ovelles, vaques i porcs; l'F, de gats, i el G, de les rates domèstiques i altres animals salvatges.

Cicle biològic, reservori i font d'infecció

Paràsit entèric, presenta dues formes evolutives en el seu cicle biològic: els trofozoïts o formes luminals, i els cists o formes de resistència, que són alhora formes de disseminació i transmissió. Els trofozoïts mesuren 10-20 µm de llargada per 7-10 µm d'amplada. Tenen aspecte de mitja pera, en la qual la cara plana té una depressió o disc ventral; gràcies al disc ventral s'adhereixen a la mucosa intestinal, on es troben dos nuclis vesiculosos, ovals i amb un gran cariosoma. Tenen quatre parells de flagels que sobresurten a l'exterior a diferents nivells de la cèl·lula. Els cists tenen forma oval i fan 8-12 x 6-9 µm. Tenen quatre nuclis en un pol i al citoplasma és característica la presència d'unes formacions transversals que corresponen als axonemes dels flagels i uns cossos arquejats duplicats.¹⁵⁵

Giardia duodenalis és un protozou amb cicle directe. L'hoste s'infecta en ingerir cists madurs, que eclosionen al duodè, on els trofozoïts es multipliquen per divisió binària. La seva eliminació és en forma trofozoica o cística. Malgrat el caràcter zoonòtic dels genotips paràsits humans, es considera que l'ésser humà és la principal font de transmissió per a l'ésser humà, a través de la contaminació de l'aigua o els aliments, o per contagi directe o contaminació del medi en condicions de baixa higiene, tal com s'esdevé habitualment en guarderies infantils, centres de recollida, etc. No es coneix amb exactitud la distribució i la prevalença dels genotips de *G. duodenalis* que poden afectar l'ésser humà. Se sap, però, que les soques dels genotips del grup A són més patògenes que les del grup B.¹⁵⁶ Malgrat que gossos i gats siguin susceptibles a la infecció per genotips dels grups A i B, les possibilitats que siguin font de brots hídrics són molt petites, sobretot en ambients rurals. Es considera que la competició entre aquestes soques i les pròpies del gos, més ben adaptades a aquest hoste, redueix les possibilitats de colonització de les primeres i per tant la seva difusió àmplia. La possibilitat de la transmissió zoonòtica de *Giardia* a partir del gos és possiblement superior en l'ambient urbà que en el rural. La presència de genotips de caire zoonòtic és molt inferior en els animals de cria que en els animals domèstics.

Pervivència als aliments

La pervivència dels cists de *Giardia* als aliments i l'aigua està molt condicionada als factors ambientals, temperatura, humitat relativa i matèria orgànica present. Tenen una notable resistència a temperatures fredes, poden romandre viables més de tres mesos a 4 °C en ambients humits, d'aquí la notable distribució de la giardiosi en regions temperades. La seva susceptibilitat a la cloració està condicionada per la temperatura i el pH. A 25 °C i pH de 6 a 8, els cists són destruïts per concentracions d'1,5 mg de clor/L en 10 minuts. Aquesta susceptibilitat disminueix quan baixa la temperatura i augmenta el pH. En aquestes condicions la concentració habitual de clor de les aigües de consum no inactiva els cists.¹⁵⁷

Patogènia

La giardia no té capacitat invasora. La patogènia és el resultat de la combinació d'una sèrie de factors mecànics i químics. La fixació dels trofozoïts amb el seu disc adhesiu a la mucosa intestinal del duodè i jejunum produeix alteracions d'aquesta, amb un escurçament i arrodoniment de les criptes, inflamació de la làmina pròpia i lesions cel·lulars. Això es tradueix en una malabsorció de greixos i substàncies liposolubles com ara carotens, vitamina B₁₂ i folat i una secreció menor d'enzims digestius intestinals.

Dosi infectant

Es considera que la ingesta de 10 cists viables pot donar lloc a una infecció, encara que s'han obtingut infeccions amb inòculs menors.¹⁵⁴

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació oscil·la entre 3 i 20 dies, amb una mitjana de 7 a 10 dies. Infestacions experimentals en ratolins han mostrat que la màxima excreció de cists i recomptes de trofozoïts intestinals té lloc dues setmanes després de la infecció.¹⁵⁷

En l'ésser humà l'excreció de cists té lloc mentre dura la infecció, i es poden eliminar fins a 10⁹ cists al dia.

Manifestacions clíniques

Les infeccions per giàrdia la majoria de les vegades cursen de forma asintomàtica. Només quan el nombre de paràsits és molt gran produeix trastorns gastrointestinals, caracteritzats per dolor epigàstric, flatulència, diarrea crònica esteatorreica, amb moc i sense sang. També es presenten trastorns neurovegetatius, pèrdua de gana i de pes. Aquests trastorns solen ser més intensos en infants que en adults, en els quals la giardiosi pot produir veritables quadres d'anorèxia i malnutrició.

En infeccions massives, a més del duodè també poden resultar colonitzades la vesícula i les vies biliars, amb ressentiment de les funcions hepatobiliars, que sol traduir-se en un estat nauseabund.

La duració de la malaltia sol ser de 2 a 6 setmanes, en els adults és més freqüent l'evolució perllongada, i en els nens i nenes les recidives. En les persones immunodeprimides l'evolució pot ser molt llarga i la malaltia, greu.

Diagnòstic de laboratori

Es practica mitjançant l'estudi parasitològic de la femta i el reconeixement de la morfologia característica de trofozoïts i cists. També es poden emprar tècniques de detecció d'antigen mitjançant immunofluorescència, tècniques immunoenzimàtiques o d'immunocromatografia.

Tractament

Els derivats imidazòlics, metronidazole i tinidazole, són els principals fàrmacs emprats per al tractament de la giardiosi. S'han de tenir en compte les possibilitats de reinfecció, sobretot quan la font de disseminació persisteix.

3.3.2 *Dientamoeba fragilis*

Malgrat el seu caràcter ameboide, s'ha caracteritzat per la seva ultraestructura com un protozou de l'ordre dels *Trichomonadida* (flagel·lats). Té una distribució cosmopolita i sovint és considerat un protozou comensal, si bé actualment està fora de dubte la seva capacitat de produir patologia. L'es-

tudi de soques de *D. fragilis* mitjançant PCR-RFLP del rDNA suggereix l'existència de dues formes genètiques diferents, de les quals s'haurà de determinar la relació amb la virulència.¹⁵⁸

No presenta cists, per la qual cosa no queda clara quin és la seva forma de transmissió, ja que els trofozoïts no són capaços de sobreviure en les condicions adverses del tub digestiu. Se suposa que, tal com passa amb espècies pròximes paràsites d'animals domèstics, *D. fragilis* utilitza com a vehicle per a la seva transmissió els ous de nemàtodes paràsits. La freqüent associació entre *D. fragilis* i *Enterobius vermicularis* fa pensar que siguin els ous de l'oxiür humà una de les principals vies d'infestació.

El quadre clínic es caracteritza per diarrea, de vegades amb nàusees i inapetència, i el seu curs és molt benigne.

Encara que es pot transmetre per aigua o aliments contaminats, no se n'han descrit brots d'origen hídric o alimentari.

3.3.3 *Entamoeba histolytica*

D'entre les amebes paràsites intestinals de l'home (*Entamoeba histolytica*, *E. dispar*, *E. hartmani*, *E. coli*, *E. polecki*, *Endolimax nana* i *Iodamoeba butschlii*), només *E. histolytica* es considera causa de patologia greu. La similitud morfològica entre *E. histolytica* i *E. dispar* ha fet pensar durant molt de temps que es tractava d'una mateixa espècie. No obstant això, les actuals tècniques per a la identificació de protozoous, fonamentalment l'anàlisi d'isoenzims, han permès diferenciar dues espècies dins el complex *E. histolytica*: una capaç de produir patologia (*E. histolytica s. str.*), de distribució tropical, i l'altra no patògena (*E. dispar*) de distribució més àmplia.¹⁵⁹

Els actuals fluxos migratoris, l'increment de viatges internacionals i transcontinentals, la freqüent forma crònica de la malaltia i la seva transmissió directa, fan que esporàdicament es presentin microepidèmies locals, fins i tot familiars, en zones no endèmiques. *E. dispar* és la forma que es troba habitualment al nostre entorn, com en altres regions temperades.

Cicle biològic, reservori i font d'infestació

El reservori és l'ésser humà. *E. histolytica* presenta tres estadis evolutius diferents: una forma trofozoica present a la llum intestinal, de 8-14 µm, anomenada forma minuta; un trofozoït tissular, de 10-30 µm, que sovint presenta en el seu endoplasma hematies fagocitades, i un cist esfèric o subesfèric, de 10-15 µm de diàmetre, que quan és madur presenta quatre nuclis. En les formes cístiques immadures es pot observar un o més vacúols i uns corpuscles bacil·liformes, anomenats cossos sideròfils o cromidials.¹⁵⁵

La forma normal d'infecció per *E. histolytica* és mitjançant la ingesta de cists madurs tetranucleats per contaminació fecal de mans, aliments o aigua. La principal font d'infecció són els portadors asimptomàtics i els malalts crònics, que eliminen cists amb la seva femta. Els malalts amb infeccions agudes i amebosis extraintestinals tenen un paper molt poc significatiu en la transmissió del paràsit.

Els cists ingerits arriben al budell prim i hi lliuren el seu contingut, que es divideix en unes amèbules metacístiques que passen al budell gruixut. Allí es multipliquen per divisió binària, i a mesura que passen a les parts posteriors del tub digestiu i la concentració d'electròlits s'incrementa es transformen en cists que s'eliminen per la femta.

Patogènia

D'acord amb circumstàncies diverses com ara la virulència de la soca, l'estat de la mucosa intestinal, l'alimentació o les infeccions intestinals concomitants, els trofozoïts luminals es fixen a la mucosa del còlon, segreguen substàncies proteolítiques i inicien la invasió de la submucosa, que dona lloc a la formació d'úlceres. Aquests trofozoïts adquireixen una mida més gran (formes tissulars o magnes) i caràcter hematòfag. A part de la paret intestinal, aquests trofozoïts poden envair altres teixits (epitelial, hepàtic, pulmonar, cerebral), bé sia per extensió directa o per via hemàtica.

Pervivència als aliments

Com en totes les formes de resistència dels protozoous, la pervivència dels cists d'*E. histolytica* està condicionada per factors ambientals. S'ha observat que poden romandre viables fins a 5 setmanes a l'aigua, dos mesos a la nevera i 45 minuts sota les ungles. Són sensibles a la dessecació, però poden resistir viables diversos dies al sòl i en aliments humits a temperatures de fins a 34 °C – 38 °C i fins a un mes a 10 °C. Són destruïts pel iode 200/10⁶, àcid acètic al 5 % - 10 %, o calor per sobre de 68 °C. La cloració habitual de l'aigua no destrueix els cists d'*E. histolytica*.¹⁶⁰

Dosi infectat

No es coneix amb precisió. Pot variar molt entre soques i individus, però probablement és molt baixa; s'ha suggerit que un cist és suficient per produir la malaltia.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és d'1 a 4 setmanes. En hámsters infectats experimentalment s'han observat úlceres cecals a les 48 hores postinfecció.¹⁶¹

De tota manera, la majoria de vegades la infecció roman asimptomàtica, amb una notable variació entre soques i individus, i són aquests hostes asimptomàtics, juntament amb els pacients amb formes cròniques, els principals transmissors i disseminadors de la infecció.

Manifestacions clíniques

La clínica de l'amebosi és molt variable d'uns individus a altres, fins i tot en infeccions per soques tropicals altament patogèniques.^{159,161} Els quadres de disenteria amèbica es caracteritzen per diarrea greu amb femta líquida, amb moc i sang, fort dolor abdominal i habitualment acompanyada de febre. La patologia se sol instaurar de forma progressiva, amb un inici banal, amb deposicions abundants i sense febre, cosa que la diferencia de la disenteria bacil·lar. L'evolució acostuma a ser favorable i la patologia remet en un període d'entre dues setmanes i dos mesos. L'amebosi és una malaltia de recaigudes i complicacions, i n'és característica l'alternança de fases de diarrea amb fases de constipació i asimptomàtiques. Les complicacions poden ser intestinals, amb perforacions i formació d'amebomes, i extraintestinals, per metàstasis o per extensió. Les formes extraintestinals més freqüents són les hepàtiques. Altres localitzacions extraintestinals poden ser pulmonars, pericàrdiques i pleuropulmonars, habitualment conseqüència de complicacions per ruptura d'abscessos hepàtics, i cerebrals, genitourinàries i cutànies.

Diagnòstic de laboratori

L'examen microscòpic de la femta és el mètode més utilitzat i, possiblement, el més efectiu. El moviment característic dels trofozoïts a la femta fresca i l'observació d'hematies al seu citoplasma permeten fer el diagnòstic de forma senzilla. En la femta fixada i acolorida, l'observació de la morfologia característica del nucli, tant en formes vegetatives com cístiques, així com la morfologia i la mida dels cists, permeten identificar *E. histolytica* s.l. Les tècniques de detecció d'antigen permeten la diferenciació entre *E. histolytica* i *E. dispar*. La detecció d'anticossos específics és especialment útil per al diagnòstic de les amebosis invasores i extraintestinals, alhora que confirma la presència d'*E. histolytica* s. str., atesa la incapacitat de produir anticossos d'*E. dispar*.

Tractament

Els derivats imidazòlics, metronidazole i tinidazole, són efectius per a les formes trofozoïques del paràsit, per la qual cosa s'administren com a primera elecció per a les formes intestinals i paraentèriques. Són, no obstant això, poc efectius davant les formes cístiques, per la qual cosa s'acompanyen de fàrmacs actius sobre les formes luminals com són el fuorat de diloxanida, la paromomicina o el iodoquinol. Aquests últims fàrmacs són també els indicats per al tractament de les formes asimptomàtiques.¹⁵⁹

3.3.4 *Cryptosporidium*

Són protozous *Apicomplexa* de cicle monoxè, o en un sol hoste, paràsits de la zona ciliar de les cèl·lules del budell prim i de l'epiteli respiratori dels

vertebrats. Encara que se'ls coneix des del principi del segle xx, les espècies d'aquest gènere van adquirir importància en patologia humana a partir de 1976, quan se'n van diagnosticar els primers casos en malalts immunodeficients. La identificació específica, basada en un principi en la mida dels oocists i les espècies d'hostes susceptibles, ha portat a una notable confusió taxonòmica. En l'actualitat, i a partir de la caracterització molecular, s'admeten 15 espècies diferents del gènere.¹⁶²

Cicle biològic, reservori i font de infecció

L'ésser humà s'infesta quan ingereix els oocists, habitualment amb aigua i aliments contaminats. Els oocists són esfèrics o subesfèrics, petits (habitualment d'entre 4 i 8 µm de diàmetre, segons les espècies) i amb 4 esporozoïts allargats al seu interior. Un cop al tub digestiu lliuren els esporozoïts que envaeixen les cèl·lules epitelials del duodè i el jejúnum i continuen un complex cicle biològic que inclou fases de multiplicació asexual, sexual i esporogònia. Com a resultat es produeixen dos tipus d'oocists, uns de coberta fina, destinats a propagar la infecció dins l'hoste, i uns altres de coberta gruixuda, encarregats de la contaminació del medi i la transmissió.¹⁶⁵ Malgrat que la majoria de les espècies tenen un cert grau d'especificitat, no són estrictament específiques d'hoste. L'ésser humà es pot infectar per *C. hominis* (abans considerat *C. parvum* tipus 1), que també es troba en ovelles i vedells, *C. parvum* (abans *C. parvum* tipus 2), que parasita moltes espècies de mamífers, i altres espècies com *C. baileyi*, *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis* i *C. muris*, propis de pollastres, gossos, gats, ànecs i ratolins, respectivament. La majoria dels brots epidèmics de criptosporidiosi de què s'ha pogut esbrinar la causa són de procedència hídrica i els vedells n'han estat l'origen.

Cryptosporidium també dona lloc a casos esporàdics —més freqüents a l'estiu— per aigües de consum i esbarjo, però també vehiculats per aliments, com ara mol·luscs i sucs de fruites, així com per contacte directe.

Patogènia

El paràsit s'assenta a l'epiteli intestinal. Les infeccions més intenses es produeixen al jejúnum. Amb el temps la infecció es desplaça en sentit caudal i pot arribar fins al còlon. La presència del paràsit produeix alteracions morfològiques de l'epiteli intestinal, amb atrofia de les vellositats, hiperplàsia de les criptes i infiltrat inflamatori de la làmina pròpia. En malalts coinfectats amb el VIH la infecció pot ser greu, sovint amb invasió extraintestinal, de manera que en resulta afectat l'epiteli biliar i respiratori.

Pervivència en els aliments

La gruixuda coberta de l'oocist confereix una notable resistència a *Cryptosporidium*, que pot sobreviure molt temps a temperatures baixes i en am-

bients humits. *C. parvum* resisteix més de 6 mesos en aigua desionitzada a temperatures inferiors a 20 °C, però només una setmana a 35 °C. En canvi la dessecació els destrueix ràpidament. En mol-luscs d'aquari, experimentalment infectats, s'han trobat oocists de *C. parvum* viables un mes després de la infecció.¹⁶³

Dosi infectant

Les dosis infectants són baixes. Experiments amb voluntaris humans situen la dosi infectant de *C. parvum* entre 9 i 1.024 oocists.¹⁶⁴

Període de incubació i transmissibilitat

El període d'incubació pot durar des de 3 a 5 dies fins a dues setmanes. L'eliminació de cists en individus immunocompetents pot durar entre una i diverses setmanes, encara que pot tenir caràcter intermitent durant els últims dies. En els moments de màxima excreció pot arribar a 10⁹ oocists per dia. En malalts immunodeficients l'eliminació d'oocists és molt llarga i pot durar diversos mesos, fins i tot anys.¹⁶⁵

Manifestacions clíniques

Els símptomes poden variar des d'una diarrea moderada a greu amb anorèxia, nàusees i vòmits. En malalts immunocompetents la infecció s'auto-limita en la major part dels casos en uns pocs dies, encara que excepcionalment pot durar setmanes o mesos. En persones immunocompromeses la infecció esdevé crònica i pot durar mesos, fins i tot anys.

Diagnòstic de laboratori

Es basa en la identificació dels oocists a la femta, en la majoria dels casos basant-se en el seu caràcter àcid resistent. Mitjançant la coloració de Ziehl-Neelsen modificada, els oocists es poden distingir com a estructures arrodonides, de 4 a 5 µm de diàmetre (en el cas de *C. hominis* i *C. parvum*), de color fúcsia. També hi són aplicables altres tècniques de coloració com la d'auramina, Giemsa, o d'immunofluorescència directa amb anticossos monoclonals. La utilització d'una concentració bifàsica formol-èter, o similar, prèvia a la coloració, facilita la detecció del paràsit. També es poden utilitzar altres tècniques de detecció d'antigen a la femta, com ELISA i immunocromatografia.

Tractament

No es coneix encara cap fàrmac efectiu per a *Cryptosporidium*. El tractament sol ser simptomàtic.

3.3.5 Cyclospora cayetanensis

És un organisme relativament nou dins la llista de paràsits causants de patologia en l'ésser humà, malgrat que es conegui des de 1979.¹⁶⁶ El seu

estatus taxonòmic ha estat confús, i se l'ha identificat com a possible *Iso-spora*, algues (CLB, 'cyanobacteria like bodies') i *Cryptosporidium*, fins que es va incloure al gènere *Cyclospora* l'any 1994.¹⁶⁷

Cicle biològic, reservori i font d'infecció

C. cayetanensis és un paràsit intracel·lular de les cèl·lules epitelials del budell prim de l'ésser humà. Com en el cas de *Cryptosporidium*, l'ésser humà s'infecta en ingerir els oocists esporulats, o madurs, que contenen quatre esporozoïts al seu interior. El cicle continua amb l'alliberament d'aquests esporozoïts al budell prim i la seva penetració a les cèl·lules epitelials. Com en tots els *Apicomplexa*, el cicle comporta fases de multiplicació asexual i sexual, seguit d'esporogònia. En el cas de *Cyclospora*, i a diferència de *Cryptosporidium*, l'esporogònia s'esdevé en el medi ambient, de manera que l'individu malalt allibera oocists sense esporular que necessiten, com a mínim, una setmana per ser infestants. D'aquí que el contagi directe amb persones infestades sigui molt poc probable.

Els oocists de *Cyclospora* són semblants als de *Cryptosporidium*, si bé més grans (8-10 µm de diàmetre).

Es té encara poca informació sobre les espècies animals que poden actuar com a reservori de *C. cayetanensis*, però sembla que es tracta d'un paràsit amb notable especificitat i que el principal disseminador és l'ésser humà. La principal font d'infecció són les aigües residuals i els vegetals regats amb aquestes aigües. La majoria de brots de ciclosporiasis que s'han produït ho han estat per ingesta de fruita (gerds, maduixes) i verdures importades de zones endèmiques, contaminades per l'aigua utilitzada per administrar insecticides, rentar o altres processos.¹⁶⁸ La seva presència sovint també ha estat associada a viatges a zones tropicals.

Patogènia

La patologia és conseqüència del cicle biològic que té lloc al budell, descrit anteriorment, i és semblant a la de *Cryptosporidium*.

Pervivència als aliments

És notable i semblant a *Cryptosporidium*. La doble coberta (esporocística i oocística) de les formes de disseminació el fan molt resistent a la cloració convencional i a altres agents químics. S'ha constatat la pervivència dels oocists entre 2 i 6 mesos en ambients humits.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és d'aproximadament una setmana, i l'eliminació d'oocists es pot perllongar fins a un més i mig després de la desaparició dels símptomes.

Manifestacions clíniques

Les manifestacions clíniques són semblants a les d'una criptosporidiosi, amb diarrea, nàusees, vòmits, anorèxia i pèrdua de pes. En absència de tractament la infecció pot tenir un curs recurrent.

Diagnòstic de laboratori

Es poden aplicar les mateixes tècniques que per a *Cryptosporidium*. Els oocists de *Cyclospora* s'assemblen molt als d'aquest, i se'n diferencien fonamentalment per la mida. Es pot recórrer a la seva concentració per gradient de densitat amb sacarosa (mètode de Sheather) i observació al microscopi de fluorescència. Els oocists presenten autofluorescència, que en facilita l'observació.

Tractament

S'administra trimetoprim-sulfametoxazole.

3.3.6 *Isospora belli*

És un coccidi paràsit intestinal oportunista de l'home, la presència del qual és excepcional en individus immunocompetents. Presenta un cicle directe, semblant al ja descrit per a *Cyclospora*, en el qual l'home s'infecta en ingerir els oocists esporulats i, després de multiplicar-se a les cèl·lules intestinals, elimina oocists no esporulats per la femta. Malgrat que la font d'infecció no està ben establerta, sembla que la via és la fecal-oral, i per tant la contaminació d'aliments i aigua pels oocists és la més probable. La seva presència produeix quadres de diarrea, autolimitada en persones immunocompetents i crònica en malalts per VIH. El diagnòstic es realitza mitjançant la troballa d'oocists a la femta, que són allargats, de 20-30 x 11-19 µm, i es poden observar mitjançant examen en fresc de la femta o en preparacions tenyides amb el colorant de Ziehl-Neelsen. Es tracta amb trimetoprim-sulfametoxazole.

3.3.7 Microsporidis

Les microsporidiosis són parasitosis emergents, majoritàriament oportunistes, produïdes per espècies pròpies de l'home en alguns casos i d'origen zoonòtic en d'altres.¹⁶⁹ Els microsporidis són paràsits intracel·lulars que se serveixen d'una peculiar estructura, anomenada tub polar, per a la penetració a l'interior de la cèl·lula.

Les espècies i reservoris coneguts de microsporidis que afecten l'home i que se suposa que són transmesos per aigua i aliments es mostren a la taula 15.

Cicle evolutiu, reservori i font d'infecció

Les formes infestants són les espores, ovals, d'1-3 x 1,5-4 µm, de les espècies paràsites de mamífers, que tenen una coberta externa quitinosa gruïda.

Taula 15. Espècies i reservoris de microsporidis

Espècie	Reservori conegut
<i>Brachiola</i> (= <i>Nosema</i>) <i>algarae</i>	Mosquits
<i>Encephalitozoon</i> (= <i>Nosema</i>) <i>cuniculi</i>	Conills, rosegadors, guineus, cabres, cavalls, primats no humans
<i>Encephalitozoon hellem</i>	Ocells
<i>Encephalitozoon</i> (= <i>Septata</i>) <i>intestinalis</i>	Burros, gossos, porcs, vaques, cabres, goril·les
<i>Encephalitozoon bieneusi</i>	Gats, gallines, gossos, cabres, primats no humans, porcs, vaques, llames, conills, guineus, ósos rentadors, almesqueres, castors
<i>Nosema</i> spp.	Insectes
<i>Pleistophora</i> spp.	Peixos
<i>Vittaforma corneae</i> (= <i>Nosema corneum</i>)	Desconeguts

Espècies i reservoris coneguts de microsporidis que afecten l'ésser humà i que es suposa que es transmeten per l'aigua i els aliments.

xuda. Al microscopi òptic, i un cop acolorides, al seu interior tan sols es pot veure un vacúol. Per observar-ne la morfologia interna i identificar-los cal emprar el microscopi electrònic.

La infecció per microsporidis es considera que es realitza la majoria de les vegades per ingesta o inhalació de les espores. En aquests casos el contingut de l'espóra o esporoplast penetra a l'interior de les cèl·lules de l'epiteli intestinal o respiratori, mitjançant el tub polar, i es multiplica. Segons l'espècie i la via d'infecció es pot produir una disseminació orgànica de les espores, suposadament a través dels macròfags. La importància dels microsporidis en patologia humana és coneguda des de fa molt poc temps i no hi ha dades suficients per reconèixer quines són les fonts i les formes d'infecció. Es considera, no obstant això que aquesta pot ser vertical i horitzontal entre éssers humans, zoonòtica, hídrica, alimentària i vectorial.

Patogènia

La multiplicació dels paràsits a l'interior de les cèl·lules provoca degeneració i mort cel·lular i inflamació local. Malgrat que algunes espècies són molt selectives quant a les cèl·lules parasitades, es considera que en general poden infectar qualsevol territori orgànic. En malalts immunodeprimits es poden produir infeccions disseminades.

Pervivència als aliments

La coberta gruixuda de les espores confereix als microsporidis una gran resistència. S'ha observat que *Encephalitozoon cuniculi* pot resistir diver-

sos mesos a l'aigua a temperatures d'entre 10 °C i 30°C.¹⁷⁰ Les espores són destruïdes per la calor, per la qual cosa la cocció dels aliments (carn, peix, marisc, etc.) és una bona mesura per evitar-ne la transmissió. El tractament amb ozó, llum ultraviolada, radiacions gamma i clor redueix la seva viabilitat.

Manifestacions clíniques

La clínica de la microsporidiosi està lligada a l'agent etiològic i l'estat immunològic de l'hoste. En individus immunocompetents la infecció sol ser inaparent o cursar amb una clínica molt discreta. En persones immunodeficients se sol produir patologia intestinal la majoria de les vegades, habitualment per disseminació del paràsit, la patologia varia d'acord amb el territori afectat.¹⁷¹

Diagnòstic

El diagnòstic de les microsporidiosis es basa en la troballa de les espores, afavorida per coloracions, entre les quals la tricròmica és la més emprada. També s'utilitza la de Giemsa, Gram i calcofluor. L'aplicació de la immunofluorescència amb anticossos específics ajuda a la identificació i dona més especificitat. La identificació de les espècies es basa en la seva ultraestructura. També s'utilitzen tècniques de PCR.^{159,171}

3.3.8 *Balantidium coli*

És un protozou ciliat, de grans dimensions (trofozoïts de 40-150 x 25-100 µm), paràsit de diferents espècies de primats, entre els quals hi ha l'ésser humà i altres mamífers, sobretot els porcs. Té una distribució fonamentalment tropical i la infecció humana es troba associada a situacions de malnutrició i manca de condicions higienicosanitàries. La contaminació fecal d'aigua i aliments es considera la principal font d'infecció. Encara que molt infreqüents, s'han descrit brots epidèmics. Malgrat que la seva patogenicitat per a l'ésser humà sembla baixa, els trofozoïts poden envair la mucosa del cec, el còlon i el recte, i donar lloc a ulceracions i diarrea amb moc i sang (disenteria balantidiana), que recorden la patologia produïda per *E. histolytica*. En zones endèmiques les infeccions asimptomàtiques són molt freqüents.¹⁷¹

Bibliografia

1. Besser J, Beebe J, Swaminathan B. Investigation of foodborne and waterborne disease outbreaks. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 162-181.
2. Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001.
3. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005.
4. Popoff MY. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. 8a ed. París: Organització Mundial de la Salut. Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, 2001.
5. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. *Salmonella* nomenclature. J Clin Microbiol 2000; 38: 2465-2467.
6. Popoff MY, Bockemuhl J, Brenner FW. Supplement 1999 (núm. 43) to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol 2000; 151: 893-896.
7. Baird-Parker AC. Foodborne salmonellosis. Lancet 1990; 336: 1231-1235.
8. St Louis ME, Morse DL, Potter ME, DeMelfi TM, Guzewish JJ, Tauxe RV, et al. The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections. New implications for the control of salmonellosis. JAMA 1988; 259: 2103-2107.
9. D'Aoust JY, Maurer JJ, Bailey JS. *Salmonella* species. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 141-178.
10. Montville TJ, Matthews KR. Food Microbiology: An Introduction. Washington DC: ASM Press, 2005.
11. US Food and Drug Administration (FDA). Bad Bug Book [web en línia]. Última actualització: 04 de gener de 2005. Disponible a: <www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html> [consultat: 27 de juliol de 2005].
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Salmonella enteritidis*. Division of Bacterial and Mycotic Diseases, Disease information. Última actualització: 07 de març de 2003. Disponible a: <www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salment_g.htm> [consultat: 27 de juliol de 2005].
13. Heymann DL, editor. Control of Communicable Diseases Manual. 18a ed. Washington DC: APHA, 2004.
14. Pegues DA, Ohl M, Miller SI. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2636-2654.

15. Francis CL, Starnbach MN, Falkow S. Morphological and cytoskeletal changes in epithelial cells occur immediately upon interaction with *Salmonella typhimurium* grown under low-oxygen conditions. *Mol Microbiol* 1992; 6: 3077-3087.
16. Fierer J, Krause M, Tauxe R, Guiney D. *Salmonella typhimurium* bacteremia: association with the virulence plasmid. *J Infect Dis* 1992; 166: 639-642.
17. Levine WC, Smart JF, Archer DL, Bean NH, Tauxe RV. Foodborne disease outbreaks in nursing homes, 1975 through 1987. *JAMA* 1991; 266: 2105-2109.
18. Salleras L, Fonollosa V, Albiol E, Canela J, Garrido P, Domínguez A, et al. Brot de toxiinfecció alimentària d'elevada letalitat en dues residències geriàtriques del Maresme. *Salut Catalunya* 1988; 2: 115-118.
19. Prats G, Gurgui M, Mirelis B, Vergèr G. Sepsis por salmonelas gastroentèricas. *Med Clin (Barc)* 1988; 90: 476.
20. Gudiol F, Heredia L, Sánchez C. Predicción de la bacteriemia en la gastroenteritis por salmonela. *Med Clin (Barc)* 1983; 80: 577-579.
21. Nachamkin I. *Campylobacter* y *Arcobacter*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 902-914.
22. Friedman CR, Neimann J, Wegener HC, Tauxe RV. 2000. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. A: Nachamkin I, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2000: 121-138.
23. Nachamkin I. *Campylobacter jejuni*. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 179-192.
24. Blaser MJ, Taylor DN, Feldman RA. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. *Epidemiol Rev* 1983; 5: 157-176.
25. Gasser I, Hidalgo E, Bartolomé R, Fernández F. Gastroenteritis por *Campylobacter fetus* ss. *jejuni*. *Med Clin (Barc)* 1982;79:395-399.
26. Mirelis B. *Campylobacter jejuni*. Microbiologia i epidemiologia [tesi doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona, 1985.
27. Jacobs-Reitsma W. *Campylobacter* in the food supply. A: Nachamkin I, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2000: 467-481.
28. Blaser MJ, Allos BM. *Campylobacter jejuni* and related species. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2548-2557.
29. Konkel ME, Joens L, Mixter PF. Molecular characterization of *Campylobacter jejuni* virulence determinants. A: Nachamkin I, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2000: 217-240.
30. Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J Infect Dis* 1988;157: 472-479.
31. Skirrow MB. *Campylobacter*. *Lancet*. 1990; 336: 921-923.

32. Butzler JP, Skirrow MB. *Campylobacter* enteritis. Clin Gastroenterol 1979; 8: 737-765.
33. Tolcin R, LaSalvia MM, Kirkley BA, Vetter EA, Cockerill FR 3rd, Procop GW. Evaluation of the Alexon-trend ProSpecT *Campylobacter* microplate assay. J Clin Microbiol 2000; 38: 3853-3855.
34. Bopp CA, Brenner FW, Fields PI, Wells JG, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover MC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 654-671.
35. Lampel KA, Maurelli AT. *Shigella* species. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 247-261.
36. Bryan FL. Infections and intoxications caused by other bacteria. A: Riemann H, Bryan FL, editors. Foodborne Infections and Intoxications. 2a ed. Nova York: Academic Press, 1979: 213-217.
37. Dupont HL. *Shigella* species. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadelfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2655-2661.
38. Goldberg MB. Actin-based motility of intracellular microbial pathogens. Microbiol Mol Biol R 2001; 65: 595-626.
39. Navia MM. Caracterización de los mecanismos de resistencia a antimicrobianos en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii* y *Shigella* ssp. [tesi doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona, 2004.
40. Baer JT, Vugia DJ, Reingold AL, Aragon T, Angulo FJ, Bradford WZ. HIV infection as a risk factor for shigellosis. Emerg Infect Dis 1999; 5: 820-823.
41. Carroll KC, Reimer L. Infectious diarrhea: pathogens and treatment. J Med Liban 2000; 48: 270-277.
42. Oldfield EC 3rd, Wallace MR. The role of antibiotics in the treatment of infectious diarrhea. Gastroenterol Clin North Am 2001; 30: 817-836.
43. Prats G, Mirelis B, Ausina V, Pericas R, Coll P, Rabella N, et al. Epidemiología de las resistencias bacterianas en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (1984-1989). Barcelona: JR Prous, 1991.
44. Donnenberg MS, Whittam TS. Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J Clin Invest 2001; 107: 539-548.
45. Vargas Orihuela ME. Prevalencia y susceptibilidad antibiótica de los diferentes tipos de *E. coli* diarreagénicos aislados de viajeros internacionales y de niños de Tanzania con síndrome diarreico [tesi doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona, 2001.
46. Donnenberg MS. *Enterobacteriaceae*. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadelfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2567-2586.

47. Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis* 1987; 155: 377-389.
48. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Protocol de Prevenció i Control de Brots de Toxiinfecció Alimentària. Documents de Vigilància Epidemiològica núm1. 1a ed. Barcelona: Direcció General de Salut Pública, 2000. Disponible a: <hwww.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/spsatia.pdf [consultat: 8 d'agost de 2005].
49. Donnenberg MS. Enteropathogenic *Escherichia coli*. A: Blazer MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL, editors. *Infections of the Gastrointestinal Tract*. Nova York: Raven Press, 1995: 709-726.
50. Pumarola A, Prats G, Mirelis B, Calaf A, Torruella T, Jiménez De Anta MT, et al. Incidence of enteroinvasive *Escherichia coli* in Spain. A 14-month prospective study. *Microbiològica* 1986; 9: 215-220.
51. Maurelli AT, Fernández RE, Bloch CA, Rode CK, Fasano A. "Black holes" and bacterial pathogenicity: a large genomic deletion that enhances the virulence of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 3943-3948.
52. Sethabutr O, Venkatesan M, Yam S, Pang LW, Smoak BL, Sang WK, et al. Detection of PCR products of the *ipaH* gene from *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by enzyme linked immunosorbent assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 37: 11-6.
53. Bradley R. Traveler's diarrhea: microbiologic bases for prevention and treatment. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (supl.1): 59-63.
54. Gutiérrez-Cazarez Z, Qadri F, Albert MJ, Girón JA. Identification of enterotoxigenic *Escherichia coli* harboring longus type IV pilus gene by DNA amplification. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1767-1771.
55. DuPont HL, Capsuto EG. Persistent diarrhea in travelers. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 124-128.
56. Schmidt H, Knop C, Franke S, Aleksic S, Heesemann J, Karch H. Development of PCR for screening of enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 701-705.
57. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2005; 365: 1073-1086.
58. Mora G. Prevalencia, serotipos, fagotipos, genes de virulència, tipos de intíminas, perfils de PFGE y resistències a antibiòtics de ECVT de origen humano y animal [tesi doctoral]. Santiago de Compostel·la: Universitat de Santiago de Compostel·la, 2002.
59. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 123-140.
60. Elliott EJ, Robins-Browne RM, O'Loughlin EV, Bennett-Wood V, Bourke J, Henning P, et al.; Contributors to the Australian Paediatric Surveillance Unit. Nation-

wide study of haemolytic uraemic syndrome: clinical, microbiological, and epidemiological features. *Arch Dis Child* 2001; 85: 125-131.

61. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Guia per a la prevenció i el control de la infecció per *Escherichia coli* O157:H7 i altres *E. coli* verotoxigenes. Quaderns de Salut Pública núm. 15. 1a ed. Barcelona: Direcció General de Salut Pública, 2001. Disponible a: <hwww.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/specoli.pdf [consultat: 12 de juliol de 2005].
62. Bockemuhl J, Wong JD. *Yersinia*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 672-683.
63. Wauters G, Aleksic S, Charlier J, Schulze G. Somatic and flagellar antigens of *Yersinia enterocolitica* and related species. *Contrib Microbiol Immunol* 1991; 12: 239-243.
64. Robins-Browne RM. *Yersinia enterocolitica*. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 215-245.
65. De Boer E, Nouws JF. Slaughter pigs and pork as a source of human pathogenic *Yersinia enterocolitica*. *Int J Food Microbiol* 1991; 12: 375-378.
66. Chao WL, Ding RJ, Chen RS. 1988. Survival of *Yersinia enterocolitica* in the environment. *Can J Microbiol* 34: 753-756.
67. Kapperud G. *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *Int J Food Microbiol* 1991; 12: 53-65.
68. Buckeridge SA, Seaman A, Woodbine M. Effects of temperature and carbohydrate on the growth and survival of *Yersinia enterocolitica*. A: Gould GW, Corry JEL, editors. *Microbial Growth and Survival in Extremes of Environment*. Londres: Academic Press, 1980: 205-214.
69. Fredriksson-Ahomaa M, Korkeala H. Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 220-229.
70. Cover TL, Aber RC. *Yersinia enterocolitica*. *N Engl J Med* 1989; 321: 16-24.
71. Marks MI, Pai CH, Lafleur L, Lackman L, Hammerberg O. *Yersinia enterocolitica* gastroenteritis: a prospective study of clinical, bacteriologic, and epidemiologic features. *J Pediatr* 1980; 96: 26-31.
72. Butler T, Dennis DT. *Yersinia* species, including plague. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2699-2701.
73. Auliso CC, Mehlman IJ, Sanders AC. Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods. *Appl Environ Microbiol* 1980; 39: 135-140.
74. Bille J, Rocourt J, Swaminathan B. *Listeria* and *Erysipelothrix*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 461-471.

75. Ooi ST, Lorber B. Gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. Clin Infect Dis 2005; 40: 1327-1332.
76. Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen [fe d'e-r-rata a Microbiol Rev 1991; 55: 752]. Microbiol Rev 1991; 55: 476-511.
77. Hartemink R, Georgsson F. Incidence of *Listeria* species in seafood and sea-food salads. Int J Food Microbiol 1991; 12: 189-195.
78. Schlech WF 3rd. Foodborne listeriosis. Clin Infect Dis 2000; 31: 770-775.
79. Troxler R, Von Graevenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. Clin Microbiol Infect 2000; 6: 525-535.
80. Tranter HS. Foodborne staphylococcal illness. Lancet 1990; 336: 1044-1046.
81. Laupland KB, Church DL, Mucenski M, Sutherland LR, Davies HD. Population-based study of the epidemiology of and the risk factors for invasive *Staphylococcus aureus* infections. J Infect Dis 2003; 187: 1452-1459.
82. Moreillon P, Que YA, Glauser MP. *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadelfia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005: 2321-2351.
83. Jablonski LM, Bohach GA. *Staphylococcus aureus*. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001. 411-434.
84. Allen SD, Emery CL, Lyerly DM. *Clostridium*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 835-856.
85. Rood JI, Cole ST. Molecular genetics and pathogenesis of *Clostridium perfringens*. Microbiol Rev 1991; 55: 621-648.
86. McClane BA. *Clostridium perfringens*. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 351-372.
87. Sarker MR, Shivers RP, Sparks SG, Juneja VK, McClane BA. Comparative experiments to examine the effects of heating on vegetative cells and spores of *Clostridium perfringens* isolates carrying plasmid genes versus chromosomal enterotoxin genes. Appl Environ Microbiol 2000; 66: 3234-3240.
88. Petersen LR, Mshar R, Cooper GH Jr, Bruce AR, Hadler JL. A large *Clostridium perfringens* foodborne outbreak with an unusual attack rate pattern. Am J Epidemiol 1988; 127: 605-611.
89. Lund BM. Foodborne disease due to *Bacillus* and *Clostridium* species. Lancet 1990; 336: 982-986.
90. Lorber B. Gas gangrene and other clostridium-associated diseases. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005: 2321-2351.

ples and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2828-2838.

91. Bos J, Smithee L, McClane B, Distefano RF, Uzal F, Songer JG, et al. Fatal necrotizing colitis following a foodborne outbreak of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* type A infection. Clin Infect Dis 2005; 40: 78-83.
92. Bryan FL, editor. Procedures to Investigate Foodborne Illness. 3a ed. Ames: International Association of Milk, Food, and Environment Sanitarians, 1976.
93. Greenberg AE, Trussell RR, Clesceri LS, editors. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16a ed. Washington DC: APHA, 1985.
94. Logan NA, Turnbull PCB. *Bacillus* and other aerobic endospore-forming bacteria. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 445-460.
95. Kotiranta A, Lounatmaa K, Haapasalo M. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. Microbes Infect 2000; 2: 189-1898.
96. Granum PE. *Bacillus cereus*. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 373-381.
97. Christiansson A, Naidu AS, Nilsson I, Wadstrom T, Pettersson HE. Toxin production by *Bacillus cereus* dairy isolates in milk at low temperatures. Appl Environ Microbiol 1989; 55: 2595-2600.
98. Granum PE, Brynestad S, Kramer JM. Analysis of enterotoxin production by *Bacillus cereus* from dairy products, food poisoning incidents and non-gastrointestinal infections. Int J Food Microbiol 1993; 17: 269-279.
99. Van Netten P, Van De Moosdijk A, Van Hoensel P, Mossel DA, Perales I. Psychrotrophic strains of *Bacillus cereus* producing enterotoxin. J Appl Bacteriol 1990; 69: 73-79.
100. Bleck TP. *Clostridium botulinum*. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2822-2828.
101. Austin JW. *Clostridium botulinum*. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 329-349.
102. Lilly T, Solomon HM, Rhodehamel EJ. Incidence of *Clostridium botulinum* in vegetables packaged under vacuum or modified atmosphere. J Food Prot 1996; 59: 59-61.
103. Kautter DA, Lilly T, Solomon HM, Lynt RK. *Clostridium botulinum* spores in infant foods: a survey. J Food Prot 1982; 45: 1028-109.
104. Morse DL, Pickard LK, Guzewich JJ, Devine BD, Shayegani M. Garlic-in-oil associated botulism: episode leads to product modification. Am J Public Health 1990; 80: 1372-1373.

105. Laso FJ, Nielsen AM, Gómez MA, Álvarez S. Botulismo benigno: ¿un error diagnóstico frecuente? Med Clin (Barc) 1986; 87: 259-260.
106. Farmer JJ 3rd, Janda JM, Birkhead K. *Vibrio*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenenbaum BC, Tenenbaum BC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 706-718.
107. Faruque SM, Chowdhury N, Kamruzzaman M, Shafi Ahmad Q, Faruque ASG, Abdus Salam M, et al. Reemergence of epidemic *Vibrio cholerae* O139, Bangladesh. Emerg Infect Dis 2003; 9: 1116-1122.
108. Sack DA, Sack RB, Nair GB, Siddique AK. Cholera. Lancet 2004; 363: 223-233.
109. Barua D. The global epidemiology of cholera in recent years. Proc R Soc Med 1972; 65: 423-428.
110. Chattopadhyay DJ, Sarkar BL, Ansari MQ, Chakrabarti BK, Roy MK, Ghosh AN, et al. New phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains. J Clin Microbiol 1993; 31: 1579-1585.
111. Chakrabarti AK, Ghosh AN, Nair GB, Niyogi SK, Bhattacharya SK, Sarkar BL. Development and evaluation of a phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O139. J Clin Microbiol 2000; 38: 44-49.
112. Morris JG Jr. Cholera and other types of vibriosis: a story of human pandemics and oysters on the half shell. Clin Infect Dis 2003; 37: 272-280.
113. Clemens J, Albert MJ, Rao M, Qadri F, Huda S, Kay B, et al. Impact of infection by *Helicobacter pylori* on the risk and severity of endemic cholera. J Infect Dis 1995; 171: 1653-1656.
114. Morris JG Jr. Non-O group 1 *Vibrio cholerae*: a look at the epidemiology of an occasional pathogen. Epidemiol Rev 1990; 12: 179-191.
115. Molero X, Bartolome RM, Vinuesa T, Guarner L, Accarino A, Casellas F, et al. Acute gastroenteritis due to *Vibrio parahaemolyticus* in Spain. Presentation of 8 cases. Med Clin (Barc) 1989; 92: 1-4.
116. Kaneko T, Colwell RR. Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. J Bacteriol 1973; 113: 24-32.
117. Hlady WG, Klontz KC. The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. J Infect Dis 1996; 173: 1176-1183.
118. Daniels NA, MacKinnon L, Bishop R, Altekruze S, Ray B, Hammond RM, et al. *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973-1998. J Infect Dis 2000; 181: 1661-1666.
119. Colwell RR, MacDonell MT, De Ley J. Proposal to recognize the family *Aeromonadaceae* fam. nov. Int J Syst Bacteriol 1986; 36: 473-477.
120. Abbott SL. *Aeromonas*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenenbaum BC, Tenenbaum BC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 701-705.
121. Janda JM. Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. Clin Microbiol Rev 1991; 4: 397-410.

122. Kirov SM. *Aeromonas* and *Plesiomonas* species. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 301-327.
123. Hanninen ML, Siitonen A. Distribution of *Aeromonas* phenospecies and genospecies among strains isolated from water, foods or from human clinical samples. Epidemiol Infect 1995; 115: 39-50.
124. Albert MJ, Ansaruzzaman M, Talukder KA, Chopra AK, Kuhn I, Rahman M, et al. Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment. J Clin Microbiol 2000; 38: 3785-3790.
125. Chacón MR, Soler L, Groisman EA, Guarro J, Figueras MJ. Type III secretion system genes in clinical *Aeromonas* isolates. J Clin Microbiol 2004; 42: 1285-1287.
126. Abbott SL, Cheung WK, Janda JM. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. J Clin Microbiol 2003; 41: 2348-2357.
127. Vila J, Marco F, Soler L, Chacón M, Figueras MJ. In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* biotype sobria. J Antimicrob Chemother 2002; 49: 701-702.
128. Abbott SL. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Plesiomonas* and other *Enterobacteriaceae*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 684-700.
129. Holmberg SD, Wachsmuth IK, Hickman-Brenner FW, Blake PA, Farmer JJ 3rd. *Plesiomonas* enteric infections in the United States. Ann Intern Med 1986; 105: 690-694.
130. Brenden RA, Miller MA, Janda JM. Clinical disease spectrum and pathogenic factors associated with *Plesiomonas shigelloides* infections in humans. Rev Infect Dis 1988; 10: 303-316.
131. Steinberg JP, Del Rio C. Other gram-negative and gram-variable bacilli. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2751-2768.
132. Green KY. The role of human caliciviruses in epidemic gastroenteritis. Arch Virol 1997; 13 (supl.): 153-165.
133. Green KY, Chanock RM, Kapikian AZ. Human caliciviruses. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. Fields Virology. 4a ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 841-874.
134. Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, et al., editors. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Academic Press, 2000.

135. Van der Poel WH, Vinje J, Van der Heide R, Herrera MI, Vivo A, Koopmans MP. Norwalk-like calicivirus genes in farm animals. *Emerg Infect Dis* 2000; 6: 36-41.
136. Buesa J, Collado B, López-Andujar P, Abu-Mallouh R, Rodríguez Díaz J, García Díaz A, et al. Molecular epidemiology of caliciviruses causing outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis in Spain. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2854-2859.
137. Le Guyader F, Haugarreau L, Miossec L, Dubois E, Pommepuy M. Three-year study to assess human enteric viruses in shellfish. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 3241-3248.
138. Kukkula M, Maunula L, Silvennoinen E, Von Bonsdorff CH. Outbreak of viral gastroenteritis due to drinking water contaminated by Norwalk-like viruses. *J Infect Dis* 1999; 180: 1771-1776.
139. Vinje J, Vennema H, Maunula L, von Bonsdorff CH, Hoehne M, Schreier E, et al. International collaborative study to compare reverse transcriptase PCR assays for detection and genotyping of noroviruses. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1423-1433.
140. Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM. Rotaviruses. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. 4a ed. Filadèlfia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 1787-1833.
141. Estes MK. Rotaviruses and their replication. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. 4a ed. Filadèlfia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 1747-1785.
142. Buesa J, de Souza CO, Asensi M, Martínez C, Prat J, Gil MT. VP7 and VP4 genotypes among rotavirus strains recovered from children with gastroenteritis over a 3-year period in Valencia, Spain. *Eur J Epidemiol* 2000; 16: 501-506.
143. Villena C, El-Senousy WM, Abad FX, Pinto RM, Bosch A. Group A *rotavirus* in sewage samples from Barcelona and Cairo: emergence of unusual genotypes. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 3919-3923.
144. Buesa J, Colomina J, Raga J, Villanueva A, Prat J. Evaluation of reverse transcription and polymerase chain reaction (RT/PCR) for the detection of rotaviruses: applications of the assay. *Res Virol* 1996; 147: 353-361.
145. Matsui SM, Greenberg, HB. Astroviruses. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. 4a ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. p.875-93.
146. Guix S, Caballero S, Bosch A, Pinto RM. C-terminal nsP1a protein of human astrovirus colocalizes with the endoplasmic reticulum and viral RNA. *J Virol* 2004; 78: 13627-13636.
147. Guix S, Bosch A, Ribes E, Dora Martínez L, Pinto RM. Apoptosis in *astrovirus*-infected CaCo-2 cells. *Virology* 2004; 319: 249-261.
148. Guix S, Caballero S, Bosch A, Pinto RM. Human *astrovirus* C-terminal nsP1a protein is involved in RNA replication. *Virology* 2005; 333: 124-131.

149. Guix S, Caballero S, Villena C, Bartolomé R, Latorre C, Rabella N, et al. Molecular epidemiology of *astrovirus* infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 133-139.
150. Caballero S, Guix S, El-Senousy WM, Calico I, Pinto RM, Bosch A. Persistent gastroenteritis in children infected with *astrovirus*: association with serotype-3 strains. *J Med Virol* 2003; 71: 245-250.
151. Shenk TE. *Adenoviridae*: the viruses and their replication. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. 4a ed. Filadèlfia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 2265-2300.
152. Benkö M, Harrach B, Russell WC. Family *adenoviridae*. A: van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, et al., editors. *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses*. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Academic Press, 2000: 227-238.
153. Horwitz MS. Adenoviruses. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. 4a ed. Filadèlfia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 2301-2326.
154. Thompson RC. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet Parasitol* 2004; 126: 15-35.
155. Gállego J. *Manual de Parasitología. Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario*. 2a ed. Barcelona: Edicions Universitat de Barcelona, 2003.
156. Read C, Walters J, Robertson ID, Thompson RC. Correlation between genotype of *Giardia duodenalis* and diarrhoea. *Int J Parasitol* 2002; 32: 229-231.
157. Meyer EA, editor. *Human Parasite Diseases*. Vol. 3. Giardiasis. Amsterdam: Elsevier, 1990: 368.
158. Johnson JA, Clark CG. Emerging from obscurity: biological clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 553-570.
159. Cook CG, Zumla AI, editors. *Manson's Tropical Diseases*. 21a ed. Filadèlfia: Saunders, 2003.
160. Walsh J, Martínez-Palomo A. Control of amebiasis. A: Martínez-Palomo A, editor. *Amebiasis*. Amsterdam: Elsevier, 1986: 241-258.
161. Pérez-Tamayo R. Pathology of amebiasis. A: Martínez-Palomo A, editor. *Amebiasis*. Amsterdam: Elsevier, 1986: 45-94.
162. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 72-97.
163. Freire-Santos F, Gómez-Couso H, Ortega-Inarrea MR, Castro-Hermida JA, Oteiza-López AM, García-Martín O, et al. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts recovered from experimentally contaminated oysters (*Ostrea edulis*) and clams (*Tapes decussatus*). *Parasitol Res* 2002; 88: 130-133.
164. Okhuysen PC, Chappell CL, Crabb JH, Sterling CR, DuPont HL. Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. *J Infect Dis* 1999; 180: 1275-1281.

165. Fayer R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Vet Parasitol* 2004; 126: 37-56.
166. Ashford RW. Occurrence of an undescribed coccidian in man in Papua New Guinea. *Ann Trop Med Parasitol* 1979; 73: 497-500.
167. Ortega YR, Gilman RH, Sterling CR. A new coccidian parasite (*Apicomplexa: Eimeriidae*) from humans. *J Parasitol* 1994; 80: 625-629.
168. Mansfield LS, Gajadhar AA. *Cyclospora cayetanensis*, a food and waterborne coccidian parasite. *Vet Parasitol* 2004; 126: 73-90.
169. Didier ES, Stovall ME, Green LC, Brindley PJ, Sestak K, Didier PJ. Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. *Vet Parasitol* 2004; 126: 145-166.
170. Li X, Palmer R, Trout JM, Fayer R. Infectivity of microsporidia spores stored in water at environmental temperatures. *J Parasitol* 2003; 89: 185-188.
171. Strickland GT, editor. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*, 8a ed. Philadelphia: Saunders, 2000.

4 Intoxicacions alimentàries

4.1 Toxines marines

Les toxines marines són responsables d'un nombre important de malalties, o intoxicacions, associades als productes de la pesca. Aquestes intoxicacions es poden dividir en dos grups segons l'agent causal: les produïdes per biotoxines marines i les produïdes per amines biògenes. Dintre del primer grup es poden esmentar la intoxicació paralitzant per mol·luscs (PSP), la intoxicació diarreica per mol·luscs (DSP), la intoxicació neurotòxica per mol·luscs, la intoxicació amnèsica per mol·luscs o intoxicació per àcid domoic (ASP), la ciguatera i la tetradotoxina; i en el segon grup destacàrem la intoxicació per histamina.

En general, aquestes toxines les produeixen algues del fitoplàncton (determinats dinoflagel·lats i diatomees), excepte en el cas de la tetradotoxina i la intoxicació per histamina. Els mol·luscs bivalves (musclos, cloïsses, etc.) que es nodreixen per la filtració de l'aigua s'alimenten del plàncton i acumulen la toxina. En el cas del cargol de mar (un mol·lusc gasteròpode no filtrador, sinó predador), acumula la toxina en alimentar-se de bivalves tòxics. L'ésser humà quan ingereix mol·luscs tòxics manifesta un quadre d'intoxicació la gravetat del qual dependrà de la quantitat i el tipus de toxina ingerit.

En general, les toxines són resistents a les altes temperatures (resisteixen la cocció), són estables en medis àcids (vinagre, llimona), no generen immunitat i no se'n coneix antídot. Els mol·luscs tòxics no es poden identificar per avaluacions organolèptiques, ja que la toxina no altera el seu color, olor ni gust. Les mesures de prevenció i profilaxi pel que fa a les biotoxines marines es basen, doncs, en la vigilància i el control sanitari de les zones de producció i en una correcta depuració del marisc abans d'arribar al consumidor; i pel que fa a la formació d'aminas biògenes, en una baixa temperatura de conservació i emmagatzematge del peix en tot moment des de la seva captura.¹

4.1.1 Biotoxines marines

Toxina paralitzant dels mol·luscs (PSP): “marea vermella”

La marea vermella la produeixen diverses microalgues, i es pot observar tant en aigua salada com en aigua dolça. S'anomena així perquè algunes microalgues produeixen un color vermell a les aigües, però també hi ha marees d'altres colors, com ara verdes, marrons, taronjades, etc. La gran

majoria de microalgues no fan que les algues canviïn de color. Dels milers de tipus de marees vermelles només un baix percentatge generen toxina (el 10 % aproximadament).

Ara bé, les marees vermelles són conseqüència d'un augment de la població total d'algun tipus de microalga a causa de diferents factors oceànics com la temperatura, la intensitat de la llum, la salinitat, els corrents marins, etc., i també a causa d'altres com la contaminació produïda per l'ésser humà que finalment és eliminada al mar. Per aquest motiu ara s'anomenen floriments d'algues nocives (FAN) i no marees vermelles.

La toxina paralitzant o PSP conforma un grup ben caracteritzat de toxines. La primera identificada va ser la saxitoxina, i es coneixen més de 18 toxines associades a aquesta síndrome. El seu nucli correspon a una tetrahidropurina molt soluble en aigua, estable a pH àcid i termoresistent. La saxitoxina és una toxina neuromuscular que actua directament sobre el sistema nerviós perifèric i el múscul esquelètic. Afecta l'activitat de la membrana cel·lular per bloqueig selectiu del transport de sodi. La dosi màxima acceptada al nostre país no pot sobrepassar els 80 µg per 100 g de marisc.²

La simptomatologia de la intoxicació comença entre els 5 i els 40 minuts posteriors a la ingestió de l'aliment contaminat, amb una sensació de formigueig a la boca, la regió peribucal, les genives i la llengua, que s'irradia després al coll i les espatlles. En els casos moderats i greus els símptomes continuen amb cefalea, mareig, nàusees, insensibilitat de braços, cames i coll, dificultat per parlar i engolir, rigidesa i incoordinació d'extremitats, sensació de flotació, dificultat respiratòria i taquicàrdia. En els casos més greus —segons la quantitat de marisc consumit— pot portar a la paràlisi dels músculs de les cames i braços i finalment a la mort per paràlisi respiratòria, en el termini de 2 a 10 hores.

Les espècies de dinoflagel·lats productors d'aquestes toxines són: *Alexandrium catenella*, *Alexandrium minutum*, *Alexandrium tamarense*, *Alexandrium fraterculus*, *Alexandrium acatanella*, *Alexandrium monileta*, *Alexandrium cohorticula*, *Alexandrium fundyensis*, *Alexandrium lusitanicum*, *Gymnodinium catenatum* i *Pyrodinium bahamense* var. *compressum*.

Toxina diarreica de mol·luscs bivalves (DSP)

Aquest grup de toxines es va conèixer l'any 1976 al Japó, i l'any 1981 a Espanya es van declarar uns 5.000 casos d'intoxicació. Es coneixen diverses toxines associades a aquesta síndrome, que són l'àcid ocadaic i derivats (dinofisistoxines), pectinotoxines, yesotoxines i azaspiràcids, tot i que se sospita que aquest últim grup pot suposar un risc superior per a l'ésser humà, ja que pot afectar altres òrgans a més del budell. Aquestes toxines són termoestables i liposolubles.

De totes aquestes toxines, la més estudiada és l'àcid ocadaic, que és un inhibidor de la proteïnosfatasa (inhibeix la desfosforació de proteïnes). Estudis recents han demostrat que pot promoure la formació de tumors.

En l'ésser humà la toxina produeix problemes gastrointestinals: diarrea, nàusees, vòmits i dolor abdominal. Els símptomes comencen entre els 30 minuts i les 12 hores posteriors (4 hores). El tractament és només simptomàtic.

Els dinoflagel·lats productors d'aquesta toxina són: *Dynophysis acuta*, *Dynophysis fortii*, *Dynophysis acuminata*, *Dynophysis norvegica*, *Dynophysis rotundata*, *Dynophysis caudata*, *Dynophysis sacculus* i *Prorocentrum lima*. Poden contaminar el mol·lusc fins i tot en baixes concentracions (centenars de cèl·lules per litre). La dosi màxima de toxina acceptada a la UE és de 160 µg d'equivalents d'àcid ocadaic per quilogram de marisc.³

Toxina neurotòxica de mol·luscs bivalves

La toxina neurotòxica la produeix el dinoflagel·lat *Gymnodinium breve* (també anomenat *Karenia brevis*). Els primers casos es van presentar l'any 1965 a Florida (EUA). S'han aïllat 6 compostos tòxics associats a la toxina neurotòxica del marisc; els símptomes són similars a la toxina paralitzant però no arriba a produir la mort. És una intoxicació molt localitzada, els casos s'han donat al golf de Mèxic i Florida.

Les toxines són polièters liposolubles i actuen en l'àmbit dels canals de sodi. Els símptomes són neurotòxics: parestèsia, sensació alterna de calor i fred, nàusees, vòmits, diarrea i atàxia dintre de les 3 hores següents a la ingestió de l'aliment. No s'observa paràlisi. També s'ha descrit irritació d'ulls i gola en éssers humans per aerosols en les costes, i contaminació i mort massiva de peixos.

Les dosis tòxiques en l'ésser humà van dels 30 als 180 µg per 100 g de marisc. Rarament és mortal.¹

Toxina amnèsica de mol·luscs bivalves (ASP)

El primer cas d'intoxicació massiva per aquesta toxina es va presentar el 1987 al Canadà. Les diatomees *Pseudonitzschia pungens*, *Pseudonitzschia australis* (*Nitzschia pseudoseriata*) i *Nitzschia pseudodelicatissima* produeixen aquesta toxina. Es caracteritzen per formar llargues files de cèl·lules disposades una sobre l'altra.

La toxina és l'àcid domoic, que és un derivat de l'àcid caínic, un anàleg de l'àcid glutàmic. L'àcid domoic és un àcid tricarboxílic dèbil, amb estructura rígida, soluble en aigua i termoestable. Competeix amb l'àcid glutàmic pels receptors d'aquest, activant-los i permetent l'entrada de clorur, calci i aigua, amb la mort cel·lular consegüent.

Els símptomes són gastrointestinals i neurològics: rampes, diarrea, vòmits, nàusees, dolor abdominal, pèrdua de la concentració, pèrdua de l'equilibri,

debilitat, mal de cap, visió borrosa, confusió, vertígens, pèrdua de la memòria de curt termini (lesiona les cèl·lules de l'hipocamp), estat de coma i mort.

La dosi màxima acceptada internacionalment és de 20 µg d'àcid domoic per gram de marisc.²

Ciguatera

Aquesta toxina és produïda pel dinoflagel·lat *Gambierdiscus toxicus*, que habita als esculls de corall i contamina els peixos herbívors tropicals i subtropicals, els peixos carnívors que se'ls mengen i finalment l'ésser humà, a través de la cadena alimentària.

Les toxines associades a aquesta síndrome són la ciguatoxina i la maio-toxina. Actuen sobre els canals del calci permetent-ne un flux superior.

Els símptomes clínics de la ciguatera són diversos, predominen els neurològics, sensació tèrmica inversa, miosi i postració, desordres gastrointestinals com nàusees, vòmits i diarrea, i alteracions cardiovasculars com hipotensió, bradicàrdia i cianosi.

Al nostre país està prohibida la comercialització de productes de la pesca que continguin ciguatoxina.²

Tetradotoxina

És una de les toxines marines més conegudes. La seva intoxicació generalment és fatal. Aparentment, en la producció de les toxines estarien involucrats bacteris, i els peixos es contaminen per aquests bacteris. El peixos implicats pertanyen a la família *Tetraodontidae* (peix globus), encara que no totes les espècies d'aquesta família contenen la toxina, i són molt consumits al Japó en forma de l'especialitat culinària anomenada *Fugu*.

La toxina és estable en un ampli rang de pH (de 3 a 8,5), i actua de forma molt similar a la saxitoxina, bloquejant els canals de sodi i impeding l'excitabilitat de la membrana. S'acumula a les vísceres del peix, i durant l'època d'octubre a març és quan es troba més concentració de la toxina. Intoxicacions per consum de peix amb continguts de 0,5-30 mg de tetradotoxina per quilogram de peix fresc s'han associat amb desenllaços fatals. Al nostre país està prohibida la comercialització dels peixos verinosos de les famílies *Tetraodontidae*, *Molidae*, *Diodontidae* i *Cantigasteridae*.⁴

En l'ésser humà els símptomes d'intoxicació comencen entre els 10 minuts i les 3 hores després de la ingestió, amb parestèsia de la cara i les extremitats. Poden anar seguits de sensacions de lleugeresa, nàusees, vòmits, diarrea i dolor epigàstric. Més tard apareixen dispnea, cianosi, hipotensió, convulsions i arítmia cardíaca. La mort es pot ocasionar entre els 20 minuts i les 8 hores.

4.1.2 Amines biògenes. Intoxicació per histamina

La intoxicació histamínica o escombroïdosi és la forma més freqüent d'intoxicació per consum de peix al món, tot i que aquesta toxina també es pot trobar en altres aliments, com formatges, vins o embotits. Les dues causes principals de presentació són la manipulació no higiènica del peix i la conservació a temperatures inadequades.^{1,5} Es produeix per la ingesta d'aliments que contenen nivells alts d'histamina i probablement d'altres amines i compostos vasoactius, com la cadaverina i la putrescina, que són presents en el peix deteriorat i que poden actuar com a potenciadors de la toxicitat de la histamina.⁶ Aquestes amines es formen en el peix *post mortem* per descarboxilació bacteriana de l'aminoàcid histidina. Sovint, els peixos afectats són els que tenen un alt contingut natural en histidina, com els que pertanyen a la família *Scombridae* (tonyina), encara que també n'afecta d'altres, per exemple la sardina i el seitó.

Els bacteris productors d'histamina són normalment del gènere *Enterobacter*, entre els quals destaquen *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* i *Hafnia alvei*⁷ com els productors més potents d'histamina. Se'n pot trobar a la majoria dels peixos, probablement com a resultat d'una contaminació postcaptura. Es desenvolupen molt bé a 10 °C, però a 5 °C el creixement es retarda considerablement.⁸ Un cop produïda la histamina en el peix, el risc que es provoqui la intoxicació és molt alt. La histamina és molt resistent a la calor, i encara que el peix s'hagi cuït, enllaunat o s'hagi sotmès a tractament tèrmic abans del seu consum, la toxina no es destrueix. Estudis epidemiològics respecte a la concentració d'histamina en peixos conclouen que si els nivells són inferiors a 50 ppm, aquests són segurs per al consum; si van de 50 a 200 ppm el peix ha estat mal conservat i possiblement és tòxic, i de 200 a 1000 ppm, el peix no és apte per al consum i probablement és tòxic.¹

Els símptomes apareixen molt ràpidament, entre 5 minuts i 1 hora després d'haver consumit el producte. La malaltia és benigna, amb quadre agut, i remet a les poques hores. Els símptomes més comuns són els cutanis (rubor facial o bucal, picor, inflamació localitzada), encara que també es pot afectar el tracte gastrointestinal (nàusees, vòmits, diarrea) o es poden produir complicacions neurològiques (mal de cap, sensació de cremor a la boca). El quadre pot empitjorar en persones grans i en les que prenen isoniazida, fàrmac amb el qual es tracta la tuberculosi.

La mesura preventiva més eficaç és mantenir la baixa temperatura des del moment de la captura i la cadena del fred molt a prop de 0 °C. La temperatura del múscul del peix ha de ser gairebé de 0 °C com a molt a les 6 hores posteriors a la seva captura.^{8,9}

4.2 Glutamat monosòdic

L'ús de l'additiu alimentari glutamat monosòdic (E-621) en la indústria alimentària i en la restauració s'ha generalitzat des de fa quasi cinquanta anys. El glutamat monosòdic (com a abreviatura s'utilitzen les sigles MSG, de l'anglès *monosodium glutamate*) és la sal sòdica de l'àcid glutàmic, un aminoàcid no essencial que és un dels aminoàcids més abundants a la natura. Es troba de forma natural en una gran varietat d'aliments que contenen proteïnes, com el formatge, la llet, els bolets, la carn, el peix i moltes verdures. Industrialment, es produeix per processos de fermentació fent servir enzims del sucre de canya, entre d'altres. El cos humà també produeix glutamat i és un element vital per al metabolisme i per al funcionament del cervell.

S'ha demostrat que la forma lliure del glutamat té un efecte potenciador del gust, i per això sovint s'afegeix com a additiu als aliments. El glutamat té un sabor característic que s'ha anomenat "umami", que es considera diferent dels altres quatre sabors bàsics (dolç, salat, amarg i àcid). Atès que es pot trobar tant en els aliments en estat natural com afegit com a additiu als menjars preparats, certs tipus de preparacions culinàries poden portar nivells significatius de glutamat lliure. No es disposa de dades de la ingesta mitjana de MSG pels consumidors al nostre país. Si mirem les dades que hi ha disponibles sobre el Regne Unit, aquestes ens indiquen que la ingesta mitjana de la població d'aquell país és de 590 mg/dia. En un menjar preparat molt condimentat, però, es pot arribar a nivells de 5.000 mg o més.¹⁰

Al final de la dècada dels seixanta van aparèixer molts informes en la literatura científica on es descrivien una sèrie de casos en els quals es presentava un conjunt de símptomes que es va anomenar "la síndrome del restaurant xinès",¹¹ ja que acostumava a presentar-se després de la ingestió d'un menjar xinès. Actualment, per anomenar aquesta síndrome s'utilitza el terme "complex de símptomes MSG", ja que l'anterior terme es va considerar pejoratiu. Les investigacions es van centrar en el glutamat monosòdic com l'agent causal de les reaccions adverses. Els símptomes més freqüents d'aquesta síndrome són mal de cap, sensació de cremor i insensibilització a la part posterior del coll, el pit i els avantbraços, pressió facial, dolor al pit, nàusees, debilitat, palpitations, broncospasme (només en asmàtics) i somnolència.

S'han fet dos estudis importants per determinar la dosi de MSG que podria provocar aquestes reaccions i també la seguretat de l'MSG com a additiu. Un d'ells va ser dut a terme pel Comitè Mixt FAO/OMS d'Experts en Additius Alimentaris (JEFCA) l'any 1987,¹² i l'altre per la Federation of Ame-

rican Societies for Experimental Biology (FASEB) el 1995.¹³ Les revisions fetes en ambdós estudis conclouen que l'MSG no representa un risc per a la salut de la població en general, tot i que no es recomana el seu consum en nadons (com passa amb altres additius alimentaris, com l'antioxidant BHA). En relació amb el fet que la ingestió de MSG sigui la causa de reaccions adverses en una part de la població, els dos organismes d'experts van arribar a conclusions lleugerament diferents. El comitè mixt FAO/OMS va dir que estudis controlats a doble cec no van poder demostrar una relació inequívoca entre el consum de MSG i la presentació del "complex de símptomes MSG". L'avaluació de la FASEB conclou que hi ha prou evidència per indicar que alguns individus poden manifestar el complex de símptomes MSG quan s'exposen per via oral a una dosi superior o igual a 3 g de MSG en absència de menjar. A més, també afirma que hi ha un petit nombre de persones asmàtiques que donen símptomes amb dosis d'1,5 a 2,5 g de MSG en absència de menjar. Pel que sembla, els símptomes són menys persistents i més atenuats si la ingestió de MSG es fa amb aliments.

Finalment, podríem dir que tots els estudis coincideixen que no hi ha evidència científica que demostrï que el glutamat monosòdic sigui un factor rellevant en la producció de reaccions sistèmiques en els consumidors amb el resultat de malalties greus o mortalitat. Sí que podria donar reaccions d'intolerància en persones sanes sensibles i en dosis superiors a 3 grams,¹⁴ que causaria al consumidor la síndrome del restaurant xinès o, com s'anomena ara, el complex de símptomes MSG. Tot i això, també hi podrien estar implicats altres aliments, com el marisc, els fruits secs, certes espècies i herbes aromàtiques. A hores d'ara, cal que es facin més estudis per determinar amb certesa el paper de l'MSG com a agent causal d'aquesta malaltia.

4.3 Micotoxines

Les micotoxines són metabòlits secundaris tòxics produïts per determinades espècies fúngiques al final de la fase de creixement, quan han infestat productes agrícoles, especialment del tipus cereals o fruites seques.¹⁵ L'exposició a les micotoxines s'efectua per via alimentària, encara que s'han descrit alguns casos molt particulars d'afeccions per via respiratòria.¹⁶ Aquesta exposició pot produir toxicitat tant aguda com crònica, amb resultats que van des de la mort a efectes nocius en els sistemes nerviós central, cardiovascular i respiratori, i en l'aparell digestiu. Les micotoxines també poden ser agents cancerígens, mutàgens, teratògens i immunodepressors.¹⁷

La intoxicació amb micotoxines es pot donar directament del producte agrícola o a través del consum de productes d'origen animal, quan aquests animals han estat alimentats amb pinsos contaminats.

Un problema important que presenten aquestes molècules és que tenen un efecte potent a baixes concentracions, juntament amb una elevada resistència a la calor amb què s'esterilitzen els productes.¹⁶

Condicions de contaminació

La contaminació amb micotoxines dels productes susceptibles té lloc com a resultat de les condicions mediambientals en el camp, així com també per les inadequades condicions en què són realitzades les operacions de collita, emmagatzematge i processament del producte.¹⁷

El desenvolupament dels fongs i la producció de micotoxines requereixen certes condicions ambientals, com ara:

- Factors físics: humitat i aigua disponible, temperatura, zones de microflora (petites zones de l'aliment amb alt contingut en humitat), i integritat física del gra o de l'aliment.
- Factors químics: composició del substrat, pH, nutrients minerals i disponibilitat d'oxigen.
- Factors biològics: presència d'invertebrats i soques fúngiques específiques (en una mateixa espècie fúngica hi ha soques productores de micotoxines i d'altres que són incapaces de produir-les).

Es reconeix, però, que els principals factors que influeixen en la producció de micotoxines són l'activitat d'aigua i la temperatura.¹⁶

A la taula 16 es presenten els principals fongs productors de micotoxines.

Aflatoxines

Els fongs del gènere *Aspergillus*, productors d'aflatoxines, es troben arreu del món, en climes temperats, subtropicals i tropicals, i poden produir aflatoxines abans i després de la collita, en nombrosos aliments i pinsos, especialment en llavors oleaginoses, nous comestibles i cereals. També poden arribar al consum humà a través dels productes animals; les vaques, en ingerir productes contaminats amb aflatoxines, metabolitzen les aflatoxines B₁ i B₂ a aflatoxines M₁ i M₂, que excreten a la llet.¹⁷

Les aflatoxines són les micotoxines més conegudes i més estudiades. Es caracteritzen per ser substàncies hepatotòxiques, carcinogèniques, teratogèniques i mutagèniques.¹⁸

Per a aquest tipus de substàncies no hi ha cap nivell per sota del qual no s'hagin observat efectes nocius, per tant no correspon fixar una dosi diària tolerable. L'estat actual dels coneixements científics i tècnics, i de les millores en les pràctiques de producció i emmagatzematge, no permet eli-

Taula 16. Principals fongs productors de micotoxines

Espècie de fong	Micotoxina produïda
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines B ₁ B ₂ G ₁ i G ₂
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B ₁ i B ₂
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Toxina T-2
<i>Fusarium graminearum</i>	Desoxinivalenol (DON o nivalenol) Zearalenona
<i>Fusarium moniliforme</i> (<i>F. verticillioides</i>)	Fumonisina B ₁
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ocratoxina A
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ocratoxina A
<i>Penicillium expansum</i>	Patulina

minar completament el desenvolupament d'aquests fongs i, consegüentment, la presència d'aflatoxines en els productes alimentosos. És per això que s'han fixat els límits en el nivell més baix possible.¹⁹

La taula 17 mostra el contingut màxim d'aflatoxines en productes alimentosos.^{20,21}

Tricotecens

Diversos fongs del gènere *Fusarium*, que són fongs comuns del terra, produeixen una sèrie de micotoxines pertanyents a la classe dels tricotecens, com són el desoxinivalenol (DON), el nivalenol (NIV) i les toxines T-2 i HT-2.²² Es coneix poc quines són les condicions més favorables per al creixement i la producció de micotoxines d'aquests fongs. La toxina T-2 es produeix en cereals i s'ha relacionat amb períodes llargs de pluja en el moment de la collita. El DON contamina diversos cereals, especialment el blat de moro i el blat.¹⁷

La toxina T-2 s'ha relacionat amb la "alèucia tòxica alimentària" (ATA). Els símptomes de l'ATA són febre, vòmits, inflamació aguda de l'aparell digestiu i diverses alteracions sanguínies.¹⁷

La ingesta de DON ha ocasionat brots de micototoxicosi aguda en la població de l'Índia, la Xina i zones rurals del Japó. El brot de la Xina (1984-85) es va caracteritzar per l'aparició, en un termini d'entre 5 i 30 minuts, de símptomes com nàusees, vòmits, dolors abdominals, diarrea, mareigs i cefalees (taula 18).¹⁷

Zearalenona

La zearalenona és una micotoxina present, principalment, en el blat de moro.¹⁷ *F. graminearum* produeix zearalenona juntament amb desoxinivalenol, i s'ha assenyalat la possible relació d'ambdues substàncies en brots de micototoxicosi aguda en éssers humans (taula 19).¹⁷

Taula 17. Continguts màxims d'aflatoxines en productes alimentosos, segons els reglaments CE 2174/2003 i CE 683/2004 de la Comissió Europea

Productes	Contingut màxim (µg/kg)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁
Cacauets, fruits amb closca i fruita seca			
Cacauets, fruits amb closca i fruita seca, i productes derivats de la seva transformació, destinats al consum humà directe o a la utilització com a ingredients en productes alimentosos	2,0	4,0	
Cacauets sotmesos a un procés de selecció, o altre tractament físic, abans del consum humà directe o del seu ús com a ingredients en productes alimentosos	8,0	15,0	-
Fruits de closca i fruita seca sotmesos a un procés de selecció, o altre tractament físic, abans del consum humà directe o del seu ús com a ingredients en els productes alimentosos	5,0	10,0	-
Cereals			
Cereals i productes derivats de la seva transformació, destinats al consum humà directe o a la utilització com a ingredients en productes alimentosos	2,0	4,0	-
Cereals, llevat del blat de moro, sotmesos a un procés de selecció, o un altre tractament físic, abans del consum humà directe o del seu ús com a ingredients en productes alimentosos	2,0	4,0	-
Blat de moro sotmès a un procés de selecció, o un altre tractament físic, abans del consum humà directe o del seu ús com a ingredient en productes alimentosos	5,0	10,0	-
Llet			0,005
Les següents espècies: - <i>Capsicum</i> spp. (fruits dessecats, sencers o triturats) - <i>Piper</i> spp. (fruits, inclosos el pebre blanc i negre) - <i>Myristica fragrans</i> (nou moscada) - <i>Zingiber officinale</i> (gingebre) - <i>Curcuma longa</i> (cúrcuma)	5,0	10,0	
Aliments infantils i aliments elaborats a base de cereals per a lactants i nens petits	0,10		
Preparats per a lactants i preparats de continuació, incloses la llet per a lactants i la llet de continuació			0,025
Aliments dietètics destinats a usos mèdics especials, dirigits específicament als lactants	0,10		0,025

Fumonisines

Les fumonisines són un grup de micotoxines produïdes per *Fusarium moniliforme*, un fong present a tot el món que sovint es troba en el blat de moro. La producció de toxines té lloc especialment quan el blat de moro es cultiva en condicions caloroses i seques.¹⁷

S'ha correlacionat, estadísticament, la seva presència en aliments amb la prevalença de càncer d'esòfag en l'ésser humà.¹⁸

Taula 18. Continguts màxims de desoxinivalenol en productes alimentosos, segons el Reglament CE 856/2005 de la Comissió Europea

Producte	Contingut màxim de desoxinivalenol (µg/kg)
Cereals no elaborats que no siguin blat dur, avena o blat de moro	1.250
Blat dur i avena no elaborats	1.750
Blat de moro no elaborat	– ¹
Farina de cereals, en especial la farina de blat de moro i el blat de moro triturat o mòlt	750
Pa, pastissos, galetes, aperitius de cereals i cereals per esmorzar	500
Pasta (seca)	750
Aliments elaborats a base de cereals per a lactants i nens petits i aliments infantils	200

1. Si no se'n fixa un contingut específic abans del any 2007 s'aplicarà 1.750 µg/kg.

Taula 19. Continguts màxims de zeralenona en productes alimentosos, segons el Reglament CE 856/2005 de la Comissió Europea

Producte	Contingut màxim de zeralenona (µg/kg)
Cereals no elaborats diferents al blat de moro	100
Blat de moro no elaborat	– ¹
Farina de cereals, excepte la farina de blat de moro	75
Farina de blat de moro, blat de moro mòlt, blat de moro triturat i oli de blat de moro refinat	– ¹
Pa, pastissos i gelats	50
Aperitius de blat de moro i cereals per esmorzar a base de blat de moro	– ¹
Altres aperitius de cereals i cereals per esmorzar	50
Aliments elaborats a base de blat de moro per a lactants i nens petits i aliments infantils	– ¹
Aliments elaborats a base de cereals per a lactants i nens petits i aliments infantils	20

1. Si no se'n fixa un contingut específic abans del any 2007 s'aplicarà: 200 µg/kg al blat de moro no elaborat, 200 µg/kg a la farina de blat de moro, 50 µg/kg als aperitius de blat de moro i cereals per esmorzar a base de blat de moro, i 20 µg/kg als aliments elaborats a base de blat de moro per a lactants i nens petits.

Ocratoxina A

L'exposició a l'ocratoxina A es produeix principalment en zones temperades de l'hemisferi nord on es cultiva blat i ordi. L'ocratoxina A també és present en el blat, l'arròs, els pèsols, les mongetes seques, el cafè, les espècies, les nous i les panses. S'ha demostrat, també, que aquesta toxina pot passar dels pinsos als productes d'origen animal, principalment en productes del porc.¹⁷

Taula 20. Contingut màxim d'ocratoxina A en productes alimentosos, segons els reglaments CE 683/2004 i CE 123/2005 de la Comissió Europea

Productes	Contingut màxim d'ocratoxina A (µg/kg)
Cereals en gra sense transformar	5
Productes derivats dels cereals (inclosos els productes transformats a base de cereals i els cereals en gra destinats a consum humà directe)	3
Panses (de Corint, sultanes i altres varietats)	10
Cafè torrat en gra i cafè torrat mòlt, llevat el cafè soluble	5,0
Cafè soluble	10,0
Vi i altres begudes a base de vi i/o molt de raïm	2,0
Suc de raïm, ingredients de suc de raïm en altres begudes, inclòs el nèctar de fruita i el suc de raïm concentrat reconstituït	2,0
Most de raïm i most de raïm concentrat reconstituït, destinats al consum humà directe	2,0
Aliments infantils i aliments elaborats a base de cereals per a lactants i nens petits	0,50
Aliments dietètics destinats a usos mèdics especials, dirigits específicament als lactants	0,50

Taula 21. Continguts màxims de patulina en productes alimentosos, segons el Reglament CE 1425/2003 de la Comissió Europea

Productes	Continguts màxims de patulina (µg/kg)
Suc de fruites, particularment el de poma, i ingredients de suc de fruites en altres begudes, inclòs el nèctar de fruites	50,0
Suc de fruites concentrat un cop reconstituït, segons les instruccions del fabricant	
Begudes espirituoses, sidra i altres begudes fermentades elaborades amb poma o que continguin suc de poma	50,0
Productes sòlids elaborats amb pomes, inclosa la compota i el puré de poma destinats al consum directe	25,0
Suc de poma i productes sòlids elaborats a base de pomes, inclosos la compota i el puré de poma destinats als lactants i nens petits, venuts i etiquetats com a tals	10,0
Altres aliments infantils	

L'ocratoxina A té un marcat caràcter nefrotòxic, així com propietats carcinogèniques, teratògenes i immunotòxiques.¹⁸

A la taula 20 es presenta el contingut màxim d'ocratoxina A en productes alimentosos.²³

Patulina

La patulina és un antibiòtic produït per diversos fongs dels gèneres *Penicillium*, *Aspergillus* i *Byssochlamys*. És present en les pomes podrides contaminades amb *P. expansum*; per això es pot trobar en suc de poma i altres productes elaborats amb aquesta fruita.^{17,24}

S'ha comprovat, en estudis experimentals, que la patulina és una neurotoxina i que produeix lesions anatomopatològiques greus en les visceres.¹⁷

A la taula 21 es presenta el contingut màxim de patulina en productes alimentosos.

Procediments per reduir la presència de micotoxines

La presència de fongs i micotoxines es pot reduir mitjançant l'aplicació de mesures preventives, tant abans com després de la collita, com per exemple amb mesures adequades de lluita contra plagues i malalties i bones pràctiques de collita, assecat i emmagatzematge. Un cop s'ha produït la contaminació amb micotoxines aquesta es pot reduir mitjançant diverses mesures, aplicades principalment després de la collita, que inclouen l'elaboració, la destoxificació i la separació.¹⁷

4.4 Bolets tòxics

Sovint la paraula fong s'associa amb els bolets, però aquesta identificació no sempre és correcta. Tots els bolets són fongs, però no tots els fongs són bolets. Els bolets només representen una fase del cicle vital de certs tipus de fongs: són les estructures reproductores on es formen les espores.

Des de temps antics, els pobles culturalment inclinats a recollir i menjar bolets han anat acumulant informació sobre les espècies metzinoses i han après a reconèixer-les i evitar-les. El tema ha merescut l'atenció dels toxicòlegs i els metges, per la qual cosa s'han acumulat moltes dades sobre la composició i l'actuació dels tòxics i sobre la simptomatologia i el tractament de les intoxicacions.

D'entre unes dues mil espècies de bolets de mida visible de la nostra flora, s'han assenyalat com a comestibles 175 espècies. Només 25 han estat destacades com a tòxiques, i no arriben a la desena les que són mortals; la resta són innòcues, si bé moltes no es consumeixen perquè no tenen bon gust o són massa petites o massa rares.²⁵

Fonamentalment hi ha dos tipus d'intoxicacions per consum de bolets:^{26,27}

- Una engloba totes les formes en les quals els símptomes, després del consum dels bolets, s'inicien en un espai de temps relativament breu, des de 30 minuts i 3 o 4 hores com a màxim. La majoria d'aquestes intoxicacions són irritacions del tub digestiu o gastroenteritis d'escassa importància, que es limiten a un quadre de nàusees, vòmits i a vegades diarrees.
- Altres formes d'intoxicació es caracteritzen pel fet que les toxines, presents en els bolets responsables, han de ser absorbides prèviament al tub digestiu per assolir, posteriorment, determinats teixits (fetge, ronyons, etc.), sobre els quals produiran un efecte lent però irreversible de destrucció cel·lular. En aquests casos, molt greus en general, els primers símptomes comencen de forma tardana: en general unes 8-10 hores posteriors a la ingesta dels bolets, i en ocasions passats uns dies.

Precaucions a l'hora de consumir bolets

En diversos llocs del nostre país hi ha una gran tradició i afició de buscar i collir bolets per cuinar-los i menjar-los. L'existència d'espècies de bolets tòxics similars als que són comestibles, o que creixen en el mateix hàbitat i durant la mateixa època de l'any, així com la creença en normes o procediments empírics per distingir-les, fan que moltes persones estiguin exposades al risc d'intoxicar-se de forma accidental quan consumeixen per error espècies verinoses que no han estat correctament identificades.

Els micòlegs insisteixen que no hi ha cap altra manera d'evitar les intoxicacions que aprendre a reconèixer les espècies; això també es pot deduir de l'anàlisi dels motius que han conduït al consum de bolets tòxics:^{26,27}

- La ignorància, el desconeixement de l'existència d'espècies de bolets capaços de posar fi a la vida de la persona intoxicada en el termini de pocs dies. Algunes persones creuen que la ingestió de bolets no comestibles pot provocar, com a molt, un quadre de diarrea més o menys greu.
- La confusió amb espècies comestibles, ja sigui per la forma, pel color o per l'època o el lloc de creixement. Per donar com a identificada una espècie s'ha de procedir amb absolut rigor i sobre la base d'una gran experiència prèvia.
- L'ús de falses normes o proves que presumptament demostren la toxicitat o la comestibilitat dels bolets (per ex.: l'ennegriment de l'all o de la cullera d'argent durant la cocció dels bolet demostren la seva toxicitat).

Altres precaucions que, encara que són òbvies poden evitar indigestions i problemes, són: consumir els bolets al més aviat possible, netejar-los amb

molta cura. Convé recol·lectar exemplars ben desenvolupats, però més aviat joves i no massa madurs. En general, és preferible menjar els bolets ben cuinats i abstenir-se del seu consum en cru, excepte les espècies que com l'ou de reig accepten aquests tipus de consum sense cap inconvenient.^{26,27}

Espècies tòxiques de bolets

Són unes quantes les espècies tòxiques de bolets que es poden trobar a Catalunya, entre les quals destaquen les assenyalades a la taula 22 (sense pretendre ser una llista exhaustiva).^{28,29}

De vegades poden aparèixer trastorns deguts al consum de bolets reconeguts com a perfectament comestibles. Els perills del consum d'aquests bolets radiquen, de vegades, en el consumidor mateix (com ara les al·lèrgies, la intolerància a certs antibiòtics produïts per alguns bolets, el dèficit de l'enzim trealasa, la gola, és a dir el consum de quantitats excessives de bolets).

Altres vegades el perill es deu a la manipulació inadequada dels bolets (transport, cuinat...) i d'altres als mateixos bolets, ja que són aliments delicats i fàcilment alterables. Al cap i a la fi passa el mateix amb altres tipus d'aliments.^{28,29}

Accidentalment, els bolets comestibles es poden tornar perillosos quan creixen en llocs tractats amb pesticides. Però més important és el contingut en metalls pesants que poden incorporar. Moltes vegades el contingut d'aquests metalls pot sobrepassar els nivells que l'OMS i el Codex Alimentarius consideren tolerables en els aliments. La gran superfície que sol ocupar el miceli en el terreny li permet absorbir certs elements com ara el cadmi, el mercuri o el plom (aquest últim sobretot en bolets que creixen a les vores de les carreteres), que apareixeran en el bolet en concentracions molt superiors a les del terra.

Taula 22. Algunes espècies de bolets tòxics que es troben a Catalunya

Nom popular	Nom científic	Toxicitat
Bolet de greix	<i>Gyromitra gigas</i> <i>Gyromitra esculenta</i> <i>Gyromitra infula</i>	Molt tòxic quan es consumeix fresc o no prou cuit.
Fredolic metzinós	<i>Tricholoma pardinum</i>	Provoca intoxicacions greus però rarament mortals. Es pot confondre amb el fredolic (<i>Tricholoma terreum</i>), que sí que és comestible.
Farinera borda (farinot o pentinella borda)	<i>Amanita phalloides</i>	Per la toxicitat elevada i la freqüència amb què es troba als nostres boscos, aquest bolet és el més perillós, ja que causa la majoria d'intoxicacions mortals.
Reig bord (reig de fageda, reig vermell, matamosques, reig de foll, oriol foll, reig tinyós)	<i>Amanita muscaria</i>	És un bolet tòxic que provoca intoxicacions que es manifesten al cap de poca estona de la ingestió (normalment entre una i quatre hores). Com indica el seu nom, es pot confondre amb l'ou de reig (<i>Amanita caesarea</i>), que sí que és comestible.
Gírgola d'olivera (bolet d'oliu)	<i>Omphalotus olearius</i>	Provoca intoxicacions greus però rarament mortals. Els primers símptomes es presenten al cap de poca estona d'haver menjat els bolets. Es pot confondre amb el fals rossinyol (<i>Hygrophopsis aurantiaca</i>) i, més difícilment, amb el rossinyol (<i>Cantharellus cibarius</i>).
Pixacà pigat (pigat bord)	<i>Amanita pantherina</i>	Provoca intoxicacions semblants a la del reig bord, però més intenses a causa d'un contingut més elevat en substàncies tòxiques.
Matagent (mataparents)	<i>Boletus satanas</i>	Bolet considerat popularment com a molt tòxic, com indica el seu nom, però no és dels més perillosos. Una característica diferencial respecte dels ceps o siurenys comestibles és que, en tallar-lo la carn es torna blava. No tots els bolets amb carn que es torna blava en contacte amb l'aire són tòxics, però en cas de dubte és millor rebutjar-los.
Verderol (groguet o pixaconill)	<i>Tricholoma equestre</i>	Pot resultar perillós per a la salut si es consumeix repetidament en un període de temps relativament curt.
Alguns bolets del grup dels cortinaris	<i>Cortinarius orellanus</i> <i>Cortinarius speciosissimus</i> i d'altres	Són molt tòxics, fins i tot poden resultar mortals. Els símptomes d'intoxicació no es manifesten fins després d'alguns dies del consum, normalment entre dos i quinze dies. Afortunadament són poc abundants i difícils de confondre amb cap bolet comestible d'ús habitual.

Nom popular	Nom científic	Toxicitat
Alguns inocibes	<i>Inocybe fastigiata</i> <i>Inocybe patouillardii</i> i d'altres	El grup dels inocibes inclou diversos bolets relativament petits que cal rebutjar ja que alguns són tòxics, mentre que els que no en són tenen poc valor culinari i es corre el perill de confondre'ls amb les espècies tòxiques.
Diversos clitocibes	<i>Clitocybe dealbata</i> <i>Clitocybe rivulosa</i> i d'altres	Alguns clitocibes de color blanc provoquen també intoxicacions com les provocades pels inocibes.
Fals carlet	<i>Entoloma sinuatum</i>	Provoca intoxicacions greus, caracteritzades per trastorns gastrointestinals. Se'l pot confondre amb el clitocibe gris (<i>Lepista nebularis</i>); la diferència més clara és que les làmines del fals carlet van adquirint un color rosat, mentre que les del clitocibe gris són blanques.
Lepiotes	<i>Lepiota helveola</i> <i>Lepiota brunneo-incarnata</i> i d'altres	Les intoxicacions per consum de lepiotes són semblants a les provocades per la farinera borda.
<i>Paxillus involutus</i>	<i>Paxillus involutus</i>	Consumit en cru provoca intoxicacions molt greus, de vegades mortals. Malgrat que hi ha qui el considera comestible després de diverses coccions, el consum repetit d'aquest bolet pot provocar reaccions de tipus al·lèrgic que poden ser molt greus. Per això es recomana rebutjar-lo.

Bibliografía

1. Huss HH. Aseguramiento de la Calidad de los Productos Pesqueros. FAO Documento Técnico de Pesca núm. 334. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1997. Disponible a: <www.fao.org/DOCREP/003/T1768S/T1768S00.HTM> [consultat: 3 d'agost de 2005].
2. Ministerio de la Presidencia, España. Real Decreto 571/1999, de 9 de abril, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria que fija las normas aplicables a la producción y comercialización de moluscos bivalvos vivos. BOE núm. 86, de 10 de abril de 1999:13522-13531. Disponible a: <www.boe.es/boe/dias/1999-04-10/pdfs/A13522-13531.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
3. Comisión Europea. Decisión de la Comisión (CE) 225/2002, de 15 de marzo de 2002, por la que se establecen normas detalladas para la aplicación de la Directiva 91/492/CEE del Consejo en lo que se refiere a los niveles máximos y los métodos de análisis de determinadas biotoxinas marinas y moluscos bivalvos, equinodermos, tunicados y gasterópodos marinos (Texto pertinente a efectos del EEE) [notificada con el número C (2002) 1001]. Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 075, de 16 de marzo de 2002: 62-64. Disponible a: <europa.eu.int/eurllex/pri/es/oj/dat/2002/l_075/l_07520020316es00620064.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
4. Ministerio de la Presidencia, España. Real Decreto 1437/1992, de 27 de noviembre, por el que se fijan las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de los productos pesqueros y de la acuicultura. BOE núm. 11, de 13 de enero de 1993: 808-820.
5. Silva CCG, Da Ponte DJB, Enes Dapkevicius MLN. Storage temperature effect on histamine formation in big eye tuna and skipjack. J Food Sci 1998; 63: 644-647.
6. Lehane L. Update on histamine fish poisoning. Med J Aust 2000; 173: 149-152.
7. Stratten JE, Taylor SL. Scombroid poisoning. A: Ward DR, Hackney CR, editors. Microbiology of Marine Food Products. Nova York: Van Nostrand Reinhold, 1991: 331-351.
8. Klausen NK, Huss HH. Growth and histamine production by *Morganella morganii* under various temperature conditions. Int J Food Microbiol 1987; 5: 147-156.
9. Huss HH, Reilly A, Ben Embarek PK. Prevention and control of hazards in sea food. Food Control 2000; 11: 149-156.
10. Ghadimi H, Kumar S, Abaci F. Studies on monosodium glutamate ingestion. 1: Biochemical explanation of the Chinese restaurant syndrome. Biochem Med 1971; 5: 447-456.
11. Kwok RHM. Chinese-restaurant syndrome. N Engl J Med 1968; 278: 796.

12. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA). L-Glutamic Acid and its Ammonium, Calcium, Monosodium and Potassium Salts. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. World Health Organization Food Additives Series No. 22. Nova York: Cambridge University Press, 1988: 97-161.
13. Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB). Analysis of Adverse Reactions to Monosodium Glutamate (MSG). Washington DC: Life Sciences Research Office, 1995.
14. Walker R, Lupien JR. The safety evaluation of monosodium glutamate. *J Nutr* 2000; 130 (4S supl.): 1049-1052.
15. Gallego Brogeras LM. Micotoxinas [article en línia]. Disponible a: <www.analizacalidad.com/micotoxinas.htm> [consultat: 3 d'agost de 2005].
16. Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria (FUNDISA). Hongos y Micotoxinas [article en línia]. Disponible a: <www.fundisa.org/articulos/micotoxinas.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
17. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Manual Sobre la Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Prevención y Control de las Micotoxinas. Estudio FAO Alimentación y Nutrición núm. 73. Roma: FAO, 2003. Disponible a: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y1390S/y1390S00.pdf>> [consultat: 3 d'agost de 2005].
18. Abarca ML, Bragulat MR, Castellà G, Accensi F, Cabañes FJ. Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: S 63-68.
19. Comisión Europea. Reglamento (CE) 466/2001 de la Comisión, de 8 de marzo de 2001, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. (Texto pertinente a efectos del EEE.) Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 077, de 16 de marzo de 2001: 1-13. Disponible a: <europa.eu.int/eurlex/pri/es/oj/dat/2001/l_077/l_07720010316es00010013.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
20. Comisión Europea. Reglamento (CE) 2174/2003 de la Comisión, de 12 de diciembre de 2003, que modifica el Reglamento (CE) 466/2001 por lo que respecta a las aflatoxinas. (Texto pertinente a efectos del EEE.) Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 326, de 13 de diciembre de 2003: 12-15. Disponible a: <europa.eu.int/eur-lex/pri/es/oj/dat/2003/l_326/l_32620031213es00120015.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
21. Comisión Europea. Reglamento (CE) 683/2004 de la Comisión, de 13 de abril de 2004, que modifica el Reglamento (CE) 466/2001 por lo que respecta a las aflatoxinas y a la ocratoxina A en los alimentos destinados a lactantes y niños de corta edad. (Texto pertinente a efectos del EEE.) Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 106, de 15 de abril de 2004: 3-5. Disponible a: <europa.eu.int/eur-lex/pri/es/oj/dat/2004/l_106/l_10620040415es00030005.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].

22. Comisión Europea. Reglamento (CE) 856/2005 de la Comisión, de 6 de junio de 2005, que modifica el Reglamento (CE) 466/2001 por lo que respecta a las toxinas de *Fusarium*. (Texto pertinente a efectos del EEE.) Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 143, de 6 de junio de 2005: 3-8. Disponible a: <europa.eu.int/eur-lex/pri/es/oj/dat/2005/l_143/l_14320050415es00030005.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
23. Comisión Europea. Reglamento (CE) 123/2005 de la Comisión, de 26 de enero de 2005, por el que se modifica el Reglamento (CE) 466/2001 con respecto a la ocratoxina A. (Texto pertinente a efectos del EEE.) Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 025, de 28 de enero de 2005: 3-5. Disponible a: <europa.eu.int/eurlex/lex/LexUriServ/site/es/oj/2005/l_025/l_02520050128es00030005.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
24. Comisión Europea. Reglamento (CE) 1425/2003 de la Comisión, de 11 de agosto de 2003, que modifica el Reglamento (CE) 466/2001 en lo relativo a la patulina. (Texto pertinente a efectos del EEE.) Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 203, de 12 de agosto de 2003: 1-3. Disponible a: <http://europa.eu.int/eur-lex/pri/es/oj/dat/2003/l_203/l_20320030812es00010003.pdf> [consultat: 3 d'agost de 2005].
25. Llimona X, editor. Història Natural dels Països Catalans. Vol. 5. Fongs i líquens. 1a ed. Barcelona: Enciclopèdia Catalana, 1991.
26. Piqueras J. Intoxicaciones por setas (I). FMC-Formación Médica en Atención Primaria 1995; 2: 386-397.
27. Piqueras J: Intoxicaciones por setas (II). FMC-Formación Médica en Atención Primaria 1995; 2: 445-454.
28. Micología: no us equivoqueu [web en línia] Disponible a: <www.lamola.com/natura/micología/> [consultat: 3 d'agost de 2005].
29. Garcia Rollán, M. Setas venenosas. Intoxicaciones y prevención. Madrid: Ediciones de la Secretaría General Técnica del Ministerio de Sanidad y Consumo, 1990.

5. Els aliments com a vehicle de toxiinfeccions alimentàries

Els microorganismes formen part integrant dels ecosistemes, i per tant la seva presència ha de ser considerada ubiqüitària. Amb aquesta premissa, es fàcil comprendre que els aliments no són productes estèrils, a excepció d'alguns casos molt especials.

Els teixits animals i vegetals constitueixen les matèries primeres, o són aliments, per tant contenen gran varietat de microorganismes a la seva superfície i, ocasionalment, a les estructures internes. Aquesta microflora és àmplia i variada i no ha de ser valorada com un risc per a la salut. Fins i tot, alguns microorganismes són imprescindibles per a l'elaboració d'alguns aliments transformats com són el formatge, el iogurt, el pa o la cervesa, és a dir, aliments fermentats i aliments madurats. En altres casos, els microorganismes poden ser causa d'alteracions de les característiques organolèptiques dels aliments, encara que això no representi un perill per a la salut.

A part dels microorganismes que s'han descrit com a beneficiosos per aconseguir aliments transformats, i dels considerats de presència no desitjable però innòcua per a la salut, hi ha un grup de microorganismes patògens que, en condicions idònies per a la seva subsistència, o perquè proliferen en una quantitat suficient en els aliments, poden produir malalties. Per això, els aliments poden ser vehicles de transmissió de microorganismes i toxines nocius per a la salut.^{1,2}

5.1 Càrrega microbiana dels aliments

A efectes sanitaris, s'entén per contaminació microbiana d'un aliment la presència de microorganismes que són lesius per a la salut, ja sigui pel seu caràcter d'agent infecciosos o bé per l'efecte tòxic d'alguns dels seus metabòlits.

La procedència dels microorganismes pot ser d'origen endogen o exogen. Tenen origen endogen quan els microorganismes són presents a la matèria primera o a l'aliment abans del seu processament; es tracta, doncs, de la flora normal o microflora pròpia de les matèries primeres. Tenen origen exogen quan els microorganismes s'adquireixen durant el procés d'elaboració, transport, emmagatzematge o conservació.

Càrrega microbiana endògena

Aquest tipus de contaminació té importància sobretot en els aliments d'origen animal. Pot derivar de la flora superficial, la respiratòria i del tub diges-

tiu. Aquesta flora serà normal, comensal o de microorganismes causants de zoonosis que es tradueixen en toxiinfeccions alimentàries, com són: *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia* i *E. coli* enterohemorràgica. La contaminació dels teixits musculars es pot donar de forma directa mitjançant el sistema limfàtic (afavorit durant el rentat), o bé durant el procés d'evisceració i espedejament.

En els vegetals, el nombre de microorganismes endògens amb potencialitat patògena és molt més limitat.

Càrrega microbiana exògena

La càrrega microbiana exògena dels aliments ve determinada per la contaminació que es produeix durant la transformació de les matèries primeres a partir dels processos de producció, recol·lecció, manipulació i emmagatzematge. Es tracta de la contaminació més freqüent i està produïda per un ampli grup de microorganismes, alguns dels quals poden ser també agents de contaminació endògena.

Durant l'obtenció i la transformació de les matèries primeres la contaminació es pot donar a partir de l'ambient, les superfícies, l'aigua, els materials, les persones i els mateixos processos tecnològics. Així doncs, durant tot el procés de transformació fins a l'obtenció del producte final, en el transport i l'emmagatzematge, els aliments experimenten noves contaminacions. L'aigua no potable així com els agents manipuladors són unes de les principals fonts de contaminació exògena. Actualment, però, la contaminació encreuada entre els aliments i la inadequada manipulació i conservació ocupen llocs encara més destacats com a factors de càrrega microbiana exògena, i per tant contribueixen en gran manera a la producció de toxiinfeccions alimentàries.³

5.2 Factors que afavoreixen la proliferació microbiana

Atesa la ubiqüitat dels microorganismes en el medi ambient, no és realista pensar que es poden eradicar dels seus reservoris naturals i així aconseguir que els aliments a l'inici de la cadena alimentària estiguin lliures de la seva presència. Així doncs, hi ha una gran varietat de microorganismes en els aliments.

De totes les espècies de microorganismes que es troben inicialment, només unes quantes podran multiplicar-se fins a produir alteracions organolèptiques o una toxiinfecció alimentària. Perquè se'n produeixi una és condició necessària que l'aliment contingui un microorganisme patògen determinat, i en la majoria dels casos, que es donin les condicions perquè aquest microorganisme es multipliqui i/o alliberi les toxines implicades en la patogenicitat.⁴

L'estudi i el coneixement dels factors que afavoreixen o inhibeixen la proliferació dels microorganismes són elements indispensables per a la prevenció i el control de l'alteració dels aliments i de la producció de toxiinfeccions alimentàries. Els factors que afavoreixen la proliferació microbiana es poden classificar en factors intrínsecs i extrínsecs.^{5,6}

5.2.1 Factors intrínsecs

Els factors intrínsecs són atributs propis dels aliments, és a dir, les propietats físiques, la composició química de l'aliment mateix, així com les seves característiques biològiques. Diversos factors intrínsecs dels aliments, com l'activitat d'aigua, l'acidesa, el potencial redox, els nutrients i la presència de components naturals antimicrobians i estructures naturals de protecció, condicionen la multiplicació microbiana.

Activitat d'aigua (Aw)

L'activitat d'aigua indica la disponibilitat d'aigua d'un medi determinat per a les reaccions químiques, bioquímiques, per a canvis d'estat o transferència per membranes semipermeables. En els aliments l'Aw es defineix com el quocient entre la pressió de l'aigua en l'aliment i la pressió de vapor de l'aigua pura a la mateixa temperatura. El seu valor oscil·la entre 0 i 1, i està inversament relacionada amb la humitat relativa de l'atmosfera (pressió osmòtica). En valors d'Aw elevats, d'entre 0,98 i 1, es poden desenvolupar gairebé tots els microorganismes. Quan l'Aw és inferior a 0,87 s'inhibeix la multiplicació de la majoria de bacteris i llevats i únicament poden proliferar els fongs filamentosos, els bacteris halòfils i els llevats osmòfils. Valors inferiors a 0,5 no permeten el creixement de cap tipus de microorganisme.

Acidesa i capacitat de tampó

Els microorganismes no tenen mecanismes per regular el seu pH intern, per tant un medi bàsic o àcid pot limitar el creixement de molts microorganismes. La majoria de microorganismes patògens no proliferen a pH inferiors a 4,5, la qual cosa permet que els aliments àcids siguin més estables i segurs.

Potencial redox (Eh)

El potencial redox d'un sistema biològic és un índex del seu grau d'oxidació. El potencial redox quantifica la facilitat amb la qual un medi perd electrons (reductor, Eh negatiu) o en guanya (oxidant, Eh positiu), i depèn de les concentracions relatives de substàncies oxidants i reductores presents, fonamentalment substàncies hidrogenades, radicals SH, sucres reductors, àcid ascòrbic i nivell d'oxidació dels cations.

La classificació dels microorganismes en aerobis i anaerobis es basa en la seva capacitat de multiplicar-se a diferents potencials redox. Un Eh ele-

vat afavoreix la multiplicació de microorganismes aerobis, i un Eh baix, la multiplicació de microorganismes anaerobis.

Nutrients

Els microorganismes que contaminen els aliments són quimioorganotròfics i fan servir preferentment els hidrats de carboni com a font d'energia. En general, els aliments proporcionen substàncies nutritives suficients per a la multiplicació microbiana. La concentració relativa d'hidrats de carboni, lípids, proteïnes i pèptids exerceix una acció selectiva i determina la flora microbiana predominant.

Substàncies inhibidores

En els aliments hi ha inhibidors microbians de forma natural. Aquestes substàncies poden impedir la proliferació de determinats microbis. De tota manera, l'acció inhibidora és limitada, tant per la seva especificitat com per la seva efectivitat.

Estructures naturals de protecció

Les estructures biològiques com la pell, cobertes o embolcalls són barres naturals que impedeixen la penetració de microorganismes. Aquestes estructures tenen una eficàcia reduïda, ja que amb el temps es lesionen o perden permeabilitat per la mateixa descomposició.

5.2.2 Factors extrínsecs

Els factors extrínsecs són factors propis de l'ambient on es conserven o s'emmagatzemen els aliments. Els més importants per al control de la multiplicació dels microorganismes en qualsevol fase de la conservació són la temperatura, la humitat relativa o vapor d'aigua i l'atmosfera ambiental.^{7,8}

Temperatura de conservació

Els microorganismes tenen un marge de temperatura en el qual es poden desenvolupar, i dins d'aquest hi ha les temperatures òptimes de multiplicació. En funció de la temperatura de multiplicació es classifiquen en tres grups:

- Psicròfils i psicòtrofs, són microorganismes adaptats al fred, es poden desenvolupar entre 0 °C i 35 °C. Les temperatures òptimes de multiplicació de psicròfils són de 15 °C i 20 °C, i la dels psicòtrofs de 25 °C i 35 °C. Alguns patògens com *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *B. cereus* i *C. botulinum* poden créixer o alliberar toxines a aquestes temperatures, fet que s'ha de tenir en compte amb els aliments elaborats amb antelació i que es conserven al refrigerador.
- Mesòfils, es multipliquen entre 20 °C i 45°C, i tenen un creixement òptim entre 35 °C i 37°C. La majoria dels microorganismes patògens

son mesòfils, per la qual cosa no és convenient, fins i tot tractant-se d'aliments de consum immediat, deixar-los a temperatura ambient.

- Termòfils i termòtrofs, es poden desenvolupar a temperatures elevades, entre 45 °C i 65 °C. El creixement òptim dels termòfils es dona a 55 °C, i el dels termòtrofs a 45 °C - 47 °C.

Humitat relativa o pressió de vapor d'aigua

La humitat relativa del medi està en equilibri amb l'Aw de l'aliment. Si la humitat atmosfèrica és inferior a l'Aw de l'aliment, aquest tendeix a dessecar-se. Si la humitat atmosfèrica és superior a l'Aw de l'aliment es produirà una migració interna de vapor d'aigua. Així doncs, els aliments exposats a un ambient temperat i humit presenten una condensació de vapor d'aigua que facilita la multiplicació i la migració microbiana, i per tant afavoreix l'alteració de l'aliment.

Atmosfera ambiental

L'oxigen influeix en el valor de l'Eh; l'augment o la disminució de la concentració d'oxigen en l'entorn dels aliments modificarà el seu Eh.

L'envasat en atmosferes modificades per desplaçament de l'oxigen per altres gasos, com nitrogen o barreges de nitrogen, hidrogen i diòxid de carboni, influeix inhibint el creixement d'una part de la flora microbiana. De tota manera, en aquests ambients hi ha la possibilitat de la multiplicació dels bacteris anaerobis incloent *C. botulinum*.

5.3 Aliments vehiculadors d'organismes causants de toxiinfeccions alimentàries

La producció industrial i l'aprofitament dels mercats nacionals i internacionals fan que la cadena que segueixen els aliments des de les matèries primeres fins al producte final, que arriba al consumidor, sigui molt llarga. Això implica, d'una banda, una conservació més prolongada dels aliments, i de l'altra una transformació. En tot aquest procés és molt important mantenir la qualitat òptima dels aliments, evitant qualsevol risc que pugui afectar el seu valor biològic, nutritiu i organolèptic.²

Als països desenvolupats la majoria d'aliments es poden qualificar com a segurs, ja que són processats amb mètodes que redueixen o eliminen la possible contaminació. Entre els aliments més importants que poden vehicular microorganismes patògens hi ha:

• Carns i derivats

Es contaminen generalment a partir del tub digestiu dels animals durant el seu sacrifici; els microorganismes que contaminen més sovint les carns són *Salmonella* i *Campylobacter*, i en menor proporció *C. perfringens*, *E. coli* enterohemorràgica i *Y. enterocolitica*.

Les carns de pollastre poden presentar contaminació per *Campylobacter* en un 85 % de les mostres, i per *Salmonella* en un 20 %.⁹ A Espanya aquest percentatge és de 66 % i 34 % respectivament.¹⁰ Les carns vermelles poden contenir aquests microorganismes però en menor proporció, i és més freqüent *Salmonella* que *Campylobacter*.

Tanmateix, no hem d'oblidar que les conserves càrnies, les semiconserves i els productes dessecats de fabricació familiar poden ser responsables de botulisme.

• Ous

Es poden contaminar amb *Salmonella* tant l'ovari (apareix a l'interior dels ous intactes) com la superfície de la closca per contaminació fecal, que s'incorpora a l'ou quan es manipula. *S. aureus* també és un microorganisme que sovint pot ser vehiculat pels ous i productes derivats que hagin estat contaminats per manipulació humana.

Actualment al nostre medi els ous i les carns són els productes primaris que causen toxiinfeccions alimentàries amb més freqüència.¹¹

• Productes làctics

La llet crua i els productes derivats són aliments molt sensibles a la contaminació, poden vehicular *Salmonella* i *Campylobacter*, així com *S. aureus*, *Y. enterocolitica*, *E. coli* enterohemorràgica i *B. cereus*. Alguns derivats com els formatges secs, els iogurts i les mantegues són més segurs pel grau d'humitat baix o el pH baix.

• Peixos i marisc

El contaminant natural i més comú en el peix i el marisc cru és *V. parahaemolyticus*.

Els peixos capturats en aigües contaminades poden contenir altres microorganismes patògens, principalment d'origen fecal. Els mol·luscs, a més de la contaminació per *V. parahaemolyticus*, per la seva nutrició per filtratge es poden contaminar per microorganismes d'origen terrestre presents a l'aigua marina, com són les salmonel·les, els clostridis i virus com el de l'hepatitis A i els calcivirus.

• Fruits i vegetals

Els fruits i vegetals es poden contaminar de la terra, l'atmosfera, les aigües d'irrigació i de l'adob orgànic, fonamentalment d'aquests dos últims, que poden portar microorganismes fecals així com virus i paràsits.

• Aliments secs

La flora predominant en aquests aliments està constituïda per *Clostridium* i *Bacillus*, i les seves espores poden sobreviure a la dessecació.

Taula 23. Principals aliments vehiculadors de toxiinfeccions alimentàries

Microorganismes	Aliments
<i>Salmonella</i>	Carns de pollastre i roges. Llet i derivats. Ous i derivats
<i>C. perfringens</i>	Carns, aliments dessecats, vegetals
<i>S. aureus</i>	Aliments molt manipulats durant la seva preparació, sense cocció o després d'ella. Derivats làctics
<i>B. cereus</i>	Cereals, aliments dessecats i derivats làctics, carns, espècies, vegetals
<i>E. coli</i>	Carn picada, marisc, llet
<i>V. parahaemolyticus</i>	Peixos
<i>Y. enterocolitica</i>	Carns de porc i aviram. Llet
<i>C. jejuni</i>	Carns d'aviram i roges. Llet i aigua
<i>C. botulinum</i>	Vegetals, fregits, peix i mel preparats a casa com a conserves
<i>Shigella</i>	Amanides
<i>V. cholerae</i>	Marisc
<i>Norovirus</i>	Amanides, marisc

A la taula 23 es resumeix la procedència habitual dels microorganismes patògens més freqüents.

5.4 Criteris microbiològics en la higiene dels aliments

Els criteris microbiològics són valors de referència per avaluar la innocuïtat i la seguretat d'un aliment. Aquests criteris s'han de fixar tenint en compte el tipus d'aliment, el sistema de processament i els tractaments aplicats abans del seu consum.

Els principals objectius dels criteris microbiològics per als diferents aliments pretenen garantir: que els aliments no siguin responsables de la difusió de malalties infeccioses ni toxiinfeccions alimentàries; que els aliments estiguin compostos per matèries primeres adequades, i no es contaminin durant el procés d'elaboració, i que els aliments siguin acceptables des del punt de vista estètic.

L'OMS defineix un criteri microbiològic com:¹²

- La indicació dels microorganismes que poden estar implicats en una toxiinfecció i que cal considerar.
- L'elaboració d'un pla de mostreig que defineixi la quantitat de mostres i el conjunt de la sistemàtica de presa de mostres.
- La descripció detallada dels mètodes i procediments d'anàlisi i quantificació.

- La definició de valors de referència per a les diferents categories de microorganismes i els marges de tolerància.

L'existència d'uns determinats resultats microbiològics és important per avaluar la garantia de qualitat dels aliments, però aquesta garantia no es pot fonamentar únicament en unes determinacions microbiològiques, sinó que s'ha d'entendre com la formulació d'un pla més ampli de garantia de qualitat, amb diverses actuacions al llarg del procés de producció que tendeixin a minimitzar el risc i assegurar la salubritat. La valoració dels resultats obtinguts en les anàlisis del producte final té una limitació: no és útil per determinar en quina fase del procés s'haurà d'incidir. De fet, tindria més sentit estudiar mostres en diferents punts de control, així s'identificaria la fase i això permetria aplicar les mesures pertinents per mantenir les condicions higièniques en el procés d'elaboració.

L'anàlisi de perills i punts de control crítics (APPCC) és un sistema d'autocontrol que identifica els perills específics d'un sistema productiu d'una indústria i les mesures preventives per controlar-los.^{13,14} Es basa en la prevenció i permet prendre mesures immediates en el cas que s'observi alguna pèrdua de control en el procés d'elaboració que pugui originar l'aparició d'un possible perill. L'aplicació de sistemes d'APPCC als escorxadors, les indústries alimentàries i els establiments de restauració és indispensable per garantir que els aliments no es contaminen en les diferents fases del processament.

Així doncs, els criteris microbiològics s'han de considerar més aviat com unes recomanacions que com uns estàndards, perquè aquests criteris de recomanació han precedit habitualment la seva elaboració. A l'Estat espanyol els criteris microbiològics es recullen al Código Alimentario Español (CAE), i en l'àmbit internacional les recomanacions més acceptades són les formulades per la Commission on Microbiological Specification for Food, per l'American Public Health Association a través del Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food i per la Comissió del Codex Alimentarius.

La investigació microbiològica pot anar directament encaminada a la detecció dels microorganismes patògens, però en molts casos és útil dirigir-la a detectar la presència de microorganismes indicadors. Aquests són un grup de bacteris que posen de manifest deficiències en la qualitat microbiològica d'un aliment, com ara tractaments tèrmics insuficients o conservació inadequada. A més indiquen la possible presència de microorganismes patògens ecològicament relacionats. L'elecció d'aquests microorganismes indicadors ha de complir les característiques següents:

- Detectables amb facilitat i rapidesa.
- Fàcilment diferenciables de la resta de flora microbiana dels aliments.

- La seva presència ha de anar associada a la presència de microorganismes patògens.
- Han de tenir característiques de creixement (requeriments i velocitat) iguals que les dels microorganismes patògens.
- Han de tenir unes taxes de mortalitat i resistència iguals o superiors a les dels microorganismes patògens.
- La finalitat dels indicadors és verificar l'eficàcia dels tractaments destinats a assegurar la innocuïtat dels aliments.

Bibliografía

1. Doyle MP, editor. Foodborne Bacterial Pathogens. Nova York: Marcel Dekker, 1989.
2. Bourgeois CM, Mesclé JF, Zucca J. Microbiología Alimentaria. Vol 1. Aspectos Microbiológicos de la Seguridad y la Calidad Alimentaria. Zaragoza: Acribia, 1998.
3. Altekruze SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging foodborne diseases. Emerg Infect Dis 1997; 3: 285-293.
4. Tisler JM. The Food and Drug Administration's perspective on HACCP. Food Technol 1991; 45: 125-127.
5. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Ecología Microbiana de los Alimentos. Vol 1. Factores que afectan a la Supervivencia y Multiplicación de los Microorganismos en los Alimentos. Zaragoza: Acribia, 1983.
6. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Microorganismos de los Alimentos. Vol 5. Características de los Patógenos Microbianos. Zaragoza: Acribia, 1998.
7. World Health Organization (WHO). Diarrhoeal Diseases Control Programme. Recent development. Wkly Epidem Rec 1989; 64 (41): 313-320. Disponible a: <whqlibdoc.who.int/wer/WHO_WER_1989/WER1989_64_313320%20(N%C2%B041).pdf> [consultat: 8 d'agost de 2005].
8. World Health Organization (WHO). Diarrhoeal Diseases Control Programme. Technical advisory group. Wkly Epidem Rec 1988; 63 (36): 269-276. Disponible a: <whqlibdoc.who.int/wer/WHO_WER_1988/WER1988_63_269276%20(N%C2%B036).pdf> [consultat: 8 d'agost de 2005].
9. Ransom GM, Kaplan B, McNamara AM, Wachsmuth IK. *Campylobacter* prevention and control: the USDA-Food Safety and Inspection Service role and new food safety approaches. A: Nachamkin I, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2000: 511-528.
10. Godoy P, Artigues C, Nuím J, Aramburu J, Pérez M, Domínguez A, et al. Brote comunitario de gastroenteritis por *Campylobacter jejuni* originado por el consumo de agua de suministro público [fe d'errata a Med Clin (Barc); 120: 174]. Med Clin (Barc) 2002; 119: 695-698.
11. Rocourt J, Moy G, Vierk K, Schlundt J. The Present State of Foodborne Disease in OECD Countries. Geneva: World Health Organization, 2003. Disponible a: <www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/oecd_fbd.pdf> [consultat: 18 de juliol de 2005].
12. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación / Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS). Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius. Manual de Procedimientos. Roma, 1986.

13. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). El Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos (ARPCC). Su aplicación a la industria de alimentos. Zaragoza: Acribia, 1991.
14. World Health Organization (WHO). Global Surveillance of Foodborne Disease: Developing a Strategy and its Interaction with Risk Analysis. Report of a WHO consultation. Geneva, 2001. Disponible a: <www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/en/surveillance_strategy.pdf> [consultat: 8 d'agost de 2005].

6. Prevenció de les toxiinfeccions alimentàries

Els coneixements actuals en matèria de malalties transmeses pels aliments porten a la conclusió que la millor actuació per evitar-les és la prevenció durant tota la cadena alimentària, des de la recol·lecció o el sacrifici fins al consum de l'aliment, sense oblidar cap pas intermedi, i sobretot tenint en compte la manipulació.

En aquest apartat es tracta de la prevenció de les toxiinfeccions alimentàries des del vessant de l'elaboració dels aliments, atès que la prevenció mitjançant l'educació de les persones manipuladores s'exposa a l'apartat 7.

Pel que fa als processos d'elaboració dels aliments, el sistema de prevenció que s'està implantant gradualment és l'Anàlisi de perills i punts de control crític (APPCC),¹ aplicable a la cadena alimentària en la seva totalitat i aho- ra a cada sector, des de la producció fins a la distribució i el consum.

L'Anàlisi de perills i punts de control crític, en anglès HACCP (*hazard analysis critical control point*), ja citat a l'apartat 5, és un intent sistematitzat d'identificar i valorar els perills microbiològics associats al processament dels aliments, i de definir els mitjans per al seu control.

L'APPCC consisteix en:

- La identificació dels perills associats a la producció, la recollida, el processament, la manufactura, la distribució, la comercialització, la preparació i l'ús d'una matèria primera determinada o un producte alimentari concret.
- La determinació dels passos concrets del processament que es poden considerar punts de control crític pels perills identificats.
- La introducció de mesures preventives als punts crítics.
- L'establiment de procediments de control dels punts crítics.
- La verificació de l'eficàcia de les accions preses.

El sistema APPCC proporciona una actitud més específica i crítica per al control dels riscos microbiològics que no pas les mesures tradicionals d'inspecció i control del producte acabat.

Dins de l'APPCC el control del compliment dels criteris microbiològics té la finalitat de verificar que s'ha treballat seguint el que s'estableix a l'APPCC durant totes les etapes de l'elaboració.

D'acord amb aquest plantejament, la prevenció s'ha d'iniciar durant la producció de la matèria primera. Diverses publicacions fan referència a aquests punts.^{2,3} A continuació s'exposen les normes des del moment en què se seleccionen les matèries primeres i s'elaboren els aliments.

6.1 Condicions higièniques dels equipaments i les instal·lacions

Tant a les plantes industrials com a les cuines, el disseny dels equips i les instal·lacions ha de permetre que els processos d'elaboració i manipulació de les matèries primeres i els aliments ja elaborats es duguin a terme en condicions higièniques. Els principis bàsics del disseny són:

- Els materials en contacte amb els aliments han de ser inerts en les condicions del seu ús. No hi pot haver migracions cap a l'aliment.
- Les superfícies en contacte amb els aliments han de ser llises, polides i no poroses per evitar que s'hi dipositin partícules d'aliments, bacteris, insectes o qualsevol element estrany.
- Les superfícies en contacte amb els aliments hauran de ser inspeccionables, és a dir, accessibles, i caldrà demostrar que els procediments de neteja establerts aconseguen un nivell d'higiene, neteja i desinfecció suficient (accés fàcil per a la neteja o un sistema de neteja automàtic).
- Les zones internes dels equips en contacte amb els aliments han de tenir una disposició que permeti el drenatge total dels líquids dels aliments i dels productes de neteja.
- El disseny dels equips cal que sigui l'adequat per protegir el contingut de la contaminació exterior.

Quant al disseny general de les instal·lacions d'una cuina, caldrà tenir en compte el següent:

- L'espai ha de ser suficient per dur-hi a terme tot el procés.
- L'aigua del subministrament ha de ser potable, amb control del nivell de clor residual.
- La manipulació dels aliments crus i cuits s'ha de fer en zones separades.
- La temperatura a les àrees de conservació i transport ha de ser l'adient.
- Els equips de refrigeració i congelació han de disposar de termòmetre.
- Els sistemes de manteniment dels equips i les instal·lacions han d'assegurar uns nivells d'higiene, neteja i desinfecció adequats.
- Els serveis higiènics (WC, dutxes, etc.) no han de tenir accés directe a les àrees d'elaboració.

6.2 Selecció de les matèries primeres

En la selecció de les matèries primeres, la persona elaboradora té la possibilitat d'establir les primeres accions preventives i rebutjar aquelles matèries que no s'adeqüin als nivells d'higiene i de qualitat establerts, ja siguin

d'ordre intern o bé d'acord amb les disposicions legals. El responsable de la compra i la recepció de les matèries primeres és qui pot detectar qual-sevol anomalia, però caldrà tenir en compte el següent:⁴

a) Les matèries primeres seran d'origen reconegut, avalades per documents comercials i/o sanitaris.

b) Es faran comprovacions visuals en funció del tipus de matèria primera:

- S'exigirà el principi d'incompatibilitat en el transport, per evitar barrejar aliments crus (carn, peix i d'altres) amb vegetals i aliments ja elaborats.
- Es controlarà la temperatura d'arribada dels productes per comprovar si s'ha respectat la cadena del fred o calor durant el transport.
- S'observaran aquelles característiques que indiquin l'estat en què arriben les matèries (aspecte, olor, cops, color, elasticitat).
- Es comprovarà que els productes envasats compleixen les dades de l'etiquetatge (data de caducitat, de consum preferent, condicions de conservació).

Seria adequat que es fessin controls analítics de les matèries primeres quan arribin, per comprovar si compleixen els paràmetres establerts prèviament amb el proveïdor i s'adeqüen a les normes de qualitat.

6.3 Emmagatzematge i conservació de les matèries primeres

L'emmagatzematge i la conservació dels aliments i les matèries primeres varien en funció de la seva naturalesa, però de manera general s'han de complir les condicions següents:

- La zona d'emmagatzematge ha d'estar neta i s'ha de desinfectar periòdicament.
- Les matèries primeres i els aliments no s'han d'emmagatzemar amb productes no alimentaris.
- Les condicions de temperatura, humitat, ventilació i llum han de ser les adequades.
- Els locals han d'estar protegits per evitar l'accés de rosegadors i insectes.
- Els aliments i les matèries primeres no estaran en contacte directe amb el terra o les parets (es col·locaran en lleixes, armaris, caixes).
- Els aliments i matèries primeres se situaran de manera que es puguin inspeccionar, sense apilaments excessius i evitant culs de sac. Així mateix, la disposició ha de permetre la rotació de l'estoc.

Els aliments peribles (carns, peixos, ous i ovoproduccions, fruites i verdures, i d'altres) necessiten a més de les condicions abans esmentades unes condicions d'emmagatzematge i conservació diferents, com són:

- Temperatures de congelació de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferiors.
- Temperatures de refrigeració de $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ segons el tipus d'aliment: les carns, les aus, el peix, la nata, les cremes, els làctics i les semi-conserves, de $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$; els ous, les fruites i les verdures, de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Aquestes temperatures s'han de controlar.

6.4 Processos d'elaboració dels aliments

Els aliments se sotmeten a preparació en més o menys grau segons la seva naturalesa, composició i tradició de consum a fi d'augmentar la seva digestibilitat, millorar les condicions organolèptiques, destruir la possible càrrega microbiana que puguin vehicular, allargar la seva vida útil i evitar que causin toxiinfeccions alimentàries.

En l'elaboració dels aliments s'han de tenir en compte tota una sèrie de principis bàsics d'higiene alimentària.

6.4.1 Manipulació d'aliments crus

Els productes que no han rebut cap tractament tèrmic o un altre sistema de conservació porten la càrrega microbiana que han recollit durant tota la cadena alimentària (producció, recol·lecció emmagatzematge i transport), i per tant poden ser una font important de contaminacions si es consumeixen crus sense un tractament de neteja correcte o amb un tractament de conservació insuficient. També són origen de nombroses contaminacions encruades si no es manipulen i es conserven correctament, atès que poden transmetre la seva contaminació a productes que ja han estat tractats tèrmicament o que no rebran cap altre tractament posterior. Per això és tan important respectar les normes d'incompatibilitat i l'ordre a l'interior de les cambres i magatzems d'aliments i els circuits o àrees de treball en un local, i respectar l'exclusivitat de les zones, superfícies i estris destinats a manipular productes crus.

Les fruites

S'han de rentar minuciosament amb aigua potable, sobretot aquelles en què la pell és susceptible de consumir-se.

Les verdures i les hortalisses

S'han de submergir abans del seu ús en aigua amb hipoclorit sòdic per tal de netejar-les i desinfectar-les en profunditat i posteriorment han de rebre una abundant esbandida amb aigua potable. Les patates i altres tubercles s'han de rentar un cop pelats. El lleixiu (hipoclorit) utilitzat per a aquesta finalitat serà d'ús alimentari, sense detergents, i es recomana una solució de 3-5 mg de clor per litre d'aigua en contacte amb el producte durant un mínim de 30 minuts.

A l'etiqueta del lleixiu es pot veure quina és la concentració de clor, i segons aquesta caldrà afegir per cada litre d'aigua:

15 gotes de lleixiu de 40 g de clor per 10 litres.

12 gotes de lleixiu de 50 g de clor per 10 litres.

6.4.2 Tractaments per elaborar i conservar els aliments

Els mètodes per disminuir la multiplicació o destruir els microorganismes presents als aliments poden ser químics, com els additius alimentaris (conservants i acidificants), i físics, com la temperatura (pasteurització i esterilització, refrigeració i congelació), l'acció de l'activitat de l'aigua (deshidratació, liofilització), el salat, l'ensucrat i les radiacions ionitzants.

Normalment, aquests mètodes s'apliquen de forma combinada (per exemple, pasteurització i posterior manteniment del producte en refrigeració). Els més utilitzats són els mètodes físics, sobretot el tractament per la temperatura. Tots aquests sistemes de conservació s'empren tant en els processos industrials de gran producció d'aliments i matèries primeres com en la pràctica domèstica de preparació d'aliments, encara que en la restauració es fan servir fonamentalment el fred per conservar i la calor per destruir els microorganismes.

La calor s'aplica en el procés de cuinat; aquest procés està basat en l'augment de la temperatura dels aliments fins a la destrucció dels possibles microorganismes patògens presents. Pot ser un tractament a alta temperatura durant poc temps o a la inversa, temperatures baixes durant un temps llarg. Els tipus de cuinat són cocció i rostit.

Cocció

Es basa en l'augment de la temperatura dels aliments de manera que la font de calor no hi incideix directament, sinó mitjançant un líquid conductor (aigua, oli o vapor). Entre les diferents modalitats de cocció es troba el bullit (el medi és l'aigua), el fregit (el medi és l'oli a alta temperatura), l'estofat o guisat (el medi és l'oli o l'aigua), i el vapor (el medi és el vapor d'aigua).

Rostit

Es basa en l'augment de la temperatura dels aliments per calor directa i seca. Les diferents modalitats de rostit són al forn, a la brasa i a la planxa.

Actualment és freqüent el consum d'aliments congelats, en els quals, pel seu procés d'elaboració, s'ha de tenir en compte la modalitat de descongelació. Les peces grosses cal que es descongelin en refrigeració, amb prou antelació perquè la descongelació sigui total abans de la cocció. Si la peça no queda ben descongelada, durant la cocció el centre de la peça no asso-

lirà la temperatura necessària per a la destrucció dels patògens, que és d'aproximadament 70 °C.

Les peces petites no cal descongelar-les, sinó que es poden cuinar directament.

Molts aliments congelats han estat sotmesos a un tractament previ o un procés de precuinat; per tant, el temps de cocció pot ser inferior al de la cuina tradicional, però en tot cas s'ha d'assegurar que s'arriba a 70 °C al centre dels productes.

6.5 Conservació de menjars elaborats

Un cop els aliments han rebut el tractament per eliminar o disminuir la multiplicació dels microorganismes, s'han de mantenir unes condicions específiques de conservació per tal d'evitar recontaminacions o la multiplicació dels microorganismes que hagin sobreviscut. Aquestes condicions s'han de mantenir tant als centres productors com durant el transport, en la distribució i a les cuines fins al consum dels aliments.

Cal tenir en compte que:

- No s'ha de trencar mai la cadena de la temperatura, bé sigui calenta o freda.
- En els aparells de conservació dels menjars elaborats (neveres, cambres, termos) s'ha de controlar sempre la temperatura amb termòmetres o termògrafs.
- S'han d'elaborar els aliments amb la mínima antelació al seu consum i conservar-los al refrigerador.
- Cal vigilar que el transport es faci en vehicles isotèrmics o refrigerats.
- L'exposició dels menjars elaborats s'ha de fer protegint-los de contaminacions externes en elements que assegurin el manteniment de la temperatura òptima de conservació, en fred o en calent.
- La refrigeració o congelació dels aliments que s'han de conservar en fred s'ha de fer al més ràpidament possible. S'han d'assolir temperatures inferiors a 10 °C en el mínim període de temps (aproximadament 2 hores).
- El rescalfament dels aliments s'ha de fer amb la mínima antelació al consum i assegurant que s'arriba a 70 °C al centre del producte.

6.6 Autocontrols

Els autocontrols són un seguit d'activitats de l'establiment alimentari destinades a l'avaluació dels processos de producció, de manera que la matei-

xa empresa pugui detectar qualsevol errada que pugui condicionar la seguretat de l'aliment.⁵

Els autocontrols s'originen a partir del sistema APPCC i d'uns requisits previs per evitar, eliminar o reduir els perills a nivells acceptables. Els requisits previs, com a mínim, han d'incloure el següent:

- Pla de control de plagues
- Pla de neteja i desinfecció
- Control de la cadena de fred
- Pla de formació del personal manipulador
- Control de la qualitat de l'aigua
- Control de proveïdors
- Pla de traçabilitat

Aquests plans han d'incloure una descripció de les activitats del pla, un calendari del compliment del pla i l'assignació de responsables dintre de l'establiment alimentari.

És imprescindible el compliment correcte dels plans descrits i el registre dels seus resultats, de manera que en qualsevol moment es pugui valorar si el procés de fabricació o elaboració de l'aliment ha estat correcte.

El pla de traçabilitat és important per localitzar l'aliment en el cas que es produeixi una intoxicació o que es detecti un perill, i retirar-lo de la cadena de distribució o del mercat. D'aquesta manera es pot garantir que la presència d'un determinat contaminant en un aliment no suposa un perill inevitable, sinó que es pot controlar abans que arribi al consumidor.

Bibliografia

1. Ministerio de la Presidencia, España. Real Decreto 2207/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene relativas a los productos alimenticios. BOE núm. 50, de 27 de febrero de 1996:7381-7386.
2. Tisler JM. The Food and Drug Administration's Perspective on HACCP. *Food Technol* 1991; 45: 125-127.
3. International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians (IAMFES). *Procedures to Investigate Foodborne Illness*. 4a ed. Iowa: IAMFES, 1987.
4. Richmond M. *The Microbiological Safety of Food. Part 1. Report of the Committee on the Microbiological Safety of Food*. Londres: HMSO Publications, 1990.
5. Comissió Europea. Document de treball SANCO/3069/2004. Facilitació de l'APPCC en petites empreses del sector alimentari. Direcció General de Protecció de la Salut i el Consumidor (DG SANCO), 2004.

7. Manipuladors d'aliments

S'entén per manipulador d'aliments tota persona que per raó de la seva activitat laboral té contacte directe amb els aliments durant la seva preparació, fabricació, transformació, elaboració, envasament, emmagatzematge, transport, distribució, venda, subministrament i servei.¹

S'entén per higiene alimentària el conjunt de mesures i condicions necessàries per controlar els perills i garantir l'aptitud per al consum humà d'un producte alimentós, tenint en compte la utilització prevista d'aquest producte.²

La innocuïtat dels aliments és una característica essencial de la qualitat, per la qual cosa hi ha normes en els àmbits nacional, autonòmic i comunitari.

Els manipuladors poden ser la causa de la contaminació microbiana dels aliments ja que poden estar afectats o colonitzats per agents patògens que poden transmetre, o perquè no apliquen correctament, per manca de formació o negligència, unes normes higièniques correctes. La possibilitat que aquestes persones estiguin involucrades en l'aparició d'un brot de toxiinfecció alimentària manté relació amb el grau de contacte que tinguin amb els aliments i amb els hàbits higiènics que adoptin.

El principal responsable de la seguretat alimentària és l'operador de l'empresa alimentària.²

L'educació i la formació són elements indispensables en el programes sobre seguretat dels aliments en tots els sectors de la cadena alimentària.³ La legislació vigent obliga els empresaris a garantir que els seus manipuladors tinguin els coneixements necessaris sobre els principis fonamentals d'higiene adequats a la seva activitat laboral i entenguin quines són les seves responsabilitats en les activitats de l'establiment.⁴ La formació i la supervisió dels manipuladors d'aliments ha d'estar relacionada amb la tasca que realitzen i amb els riscos que les seves activitats comporten per a la seguretat alimentària. El programa de formació dels manipuladors d'aliments és un requisit que l'empresa ha d'incloure en el Pla d'anàlisi de perills i punts de control crític (APPCC),² o que ha d'aplicar com a instrument complementari a les guies de pràctiques correctes d'higiene.

Les guies de pràctiques correctes són un instrument valuós per ajudar els operadors de les empreses alimentàries, en tots els nivells de la cadena alimentària, a complir les normes sobre higiene dels aliments,² i s'han de considerar com un més dels requisits de les empreses. Ofereixen la possibilitat d'aconseguir la innocuïtat dels aliments alhora que en mantenen la qualitat. A més de ser obligatòries, algunes pràctiques donen lloc a impor-

tants millores i no requereixen inversió de capital, especialment quan parlem de l'ordre, la higiene i la capacitació del personal (manipuladors i manipuladores).

Les persones que exerceixen la seva activitat laboral en qualsevol de les etapes de la producció, la transformació i la distribució d'aliments han d'actuar d'acord amb les normes d'higiene, que han de conèixer i aplicar correctament. Per respondre a aquesta obligació, el personal directiu i els responsables en el control de les empreses han de tenir un nivell de coneixements suficient en seguretat alimentària. D'aquesta forma, el personal directiu pot exigir i controlar que els manipuladors apliquen les pràctiques d'higiene correctament, cosa que s'ha de poder demostrar, en qualsevol moment, a l'autoritat sanitària competent.⁵

Els programes de formació els ha de desenvolupar, i si escau impartir, la mateixa empresa o una empresa o entitat autoritzada per l'autoritat sanitària competent.⁵

Requisits dels manipuladors d'aliments

El Reial decret 202/2000, d'11 de febrer, pel qual s'estableixen les normes relatives als manipuladors d'aliments⁵ estableix que aquests han de:

- Rebre formació en higiene alimentària.
- Complir les normes d'higiene quant a actituds, hàbits i comportament.
- Conèixer i complir les instruccions de treball establertes per l'empresa a fi de garantir la seguretat i la salubritat dels aliments.
- Mantenir un grau elevat d'higiene personal, portar roba neta i d'ús exclusiu i fer servir, quan sigui necessari, roba protectora per cobrir el cap i calçat adequat.
- Protegir-se les ferides amb apòsits impermeables apropiats.
- Rentar-se les mans amb aigua calenta i sabó o desinfectant adequat, tants cops com ho requereixin les condicions de treball i sempre abans d'incorporar-se al seu lloc, després d'haver-se'n absentat o d'haver realitzat activitats alienes a la seva tasca específica.

De la mateixa manera, durant l'exercici de l'activitat, els manipuladors no podran:

- Fumar, mastegar xiclet, menjar en el lloc de treball, esternudar o tossir sobre els aliments ni dur a terme qualsevol altra activitat que pugui ser causa de contaminació dels aliments.
- Portar efectes personals que puguin entrar en contacte directe amb els aliments, com anells, polseres, rellotges o altres objectes.

Qualsevol persona que pateixi una malaltia de transmissió alimentària o que estigui afectada per infeccions cutànies o diarrea, o per altres processos que

puguin causar una contaminació directa o indirecta dels aliments amb microorganismes patògens, haurà d'informar sobre la malaltia o els seus símptomes al responsable de l'establiment, amb la finalitat de valorar conjuntament la necessitat de sotmetre's a un examen mèdic, i si és necessari, caldrà separar-lo temporalment de la manipulació de productes alimentosos.

7.1 Normes d'higiene personal per als manipuladors

La manca d'higiene personal pot ser una de les causes de contaminació dels aliments. És per això que els manipuladors d'aliments han d'atendre un conjunt de normes d'higiene personal relacionades amb la preparació dels aliments.

Normes d'higiene personal

La higiene diària permet reduir els microbis que es reproduïxen al cos.

La higiene de les mans és una de les normes més importants, ja que estan en contacte directe amb els aliments. No s'ha de dur anells, polseres ni rellotges perquè acumulen brutícia, són suport de microbis i poden produir accidents amb la maquinària. Les mans s'han de rentar a consciència amb sabó, aigua calenta i raspall d'angles, esbandir-les i assecar-les perfectament.

Cal rentar-se les mans:

- Quan es comença la feina i cada vegada que aquesta s'interrompi per fer una altra cosa.
- Després de tocar els aliments crus.
- Abans de manipular els aliments cuinats.
- Després d'utilitzar el mocador per tossir, esternudar o mocar-nos.
- Després d'utilitzar el vàter.
- Després de manipular escombraries.

El manipulador d'aliments en l'exercici de la seva activitat ha de fer servir roba d'ús exclusiu per a la feina, ha de dur el cabell protegit i el calçat adequat.

La roba i el calçat que es porten al carrer poden transportar els microbis al lloc de treball. L'uniforme de treball és un protector i ha d'estar sempre net, especialment el davantal. Als cabells, com a tota la pell, s'hi troben bacteris. La còfia o la gorra contribueixen a evitar que caiguin els cabells dins el menjar i els protegeixen dels vapors, els greixos i les olors.⁶

7.2 Pràctiques higièniques de manipulació

Durant l'elaboració o preparació d'un aliment és on les conseqüències d'una mala manipulació pot tenir repercussions més greus sobre el consumidor.

Per això s'han d'extremar les mesures preventives encaminades a evitar la contaminació dels aliments i la multiplicació dels microorganismes que hi poden ser presents. Per aconseguir això s'ha de tenir en compte tot el que es datalla a continuació:

En l'elaboració, transformació i/o manipulació

- Preparar els aliments amb la menor antelació possible al seu consum.
- Coure els aliments a temperatura suficient, a 70 °C, per assegurar la destrucció dels microbis.
- Evitar tocar els aliments directament amb les mans. Per a això es faran servir pinces, culleres, forquilles, etc.
- Evitar la contaminació encreuada que es produeix quan els contaminants passen d'un aliment a un altre a través d'estris, equips, superfícies o mans brutes.
- Cal utilitzar únicament aigua potable per cuinar i per a la preparació de glaçons, gelats i begudes aquoses.

En la conservació i el transport

- Evitar mantenir els aliments a temperatures d'entre 10 °C i 60 °C, en què es pot produir una multiplicació ràpida i progressiva dels microbis.
- Els aliments que no necessiten fred s'han d'emmagatzemar en llocs nets, secs, ventilats i protegits de la llum solar.
- Els aliments que per les seves característiques siguin favorables al creixement bacterià s'han de conservar en règim de fred.
- No s'ha de sobrepassar mai la capacitat dels frigorífics.
- S'ha de comprovar la temperatura de les instal·lacions i dels equips de fred.
- Els aliments s'han d'ordenar segons les diferents classes i tipus: carn, peix, lactis, ous, fruita i verdura. A més, cal separar els aliments cuïts dels crus.
- Els aliments s'han de col·locar en prestatges i no s'han de posar mai sobre el terra o en contacte amb les parets.

Durant el transport

- Els aliments que requereixen fred s'han de transportar en vehicles isotèrmics o frigorífics. La temperatura de transport ha de ser d'entre 0 °C i 5 °C per als productes refrigerats, i cal temperatura igual o inferior a -18 °C si es tracta de productes congelats.
- La cadena del fred no s'ha de trencar mai.
- La càrrega i descàrrega s'ha de fer ràpidament, i el vehicle ha d'estar estacionat tan pròxim a l'establiment com sigui possible.

- La part del vehicle destinada a la càrrega ha d'estar construïda amb materials de superfícies llises, resistents i de neteja i desinfecció fàcils.

En la neteja

- Cal utilitzar sempre aigua potable per a la neteja dels estris i de les instal·lacions, així com per a la higiene corporal.
- La neteja s'ha de fer sempre de manera humida. El terra no s'ha d'escombrar mai en sec.
- Diàriament s'han de netejar els terres, les parets i les superfícies de treball.
- Les picadores, batedores i estris similars s'han de desmuntar, netejar i desinfectar cada vegada després del seu ús.
- Els equips com forns i fregidores s'han de netejar diàriament, i un cop a la setmana molt meticulosament.
- Quan es fan servir màquines de rentar s'han d'eliminar en primer lloc les restes de menjar per facilitar el rentat. L'última esbandida s'ha de fer a 82 °C.
- Els productes de neteja i desinfecció s'han de guardar correctament identificats i convenientment separats dels aliments.
- Les escombraries s'han de recollir en recipients de materials fàcils de netejar i impermeables que disposin de tapa que tanqui hermèticament de manera automàtica.
- A l'interior del recipient s'hi ha de posar una bossa de plàstic d'un sol ús fixada a la boca.
- Les bosses d'escombraries s'han de treure cada vegada que estiguin plenes i, en tot cas, diàriament.
- Els recipients s'han de netejar i desinfectar cada vegada que es buidin i, com a mínim, una vegada al dia.⁶

7.3 Actitud davant del manipulador portador

Els manipuladors poden contaminar els aliments bé per contaminació encreuada, quan actuen com a pont per als microorganismes entre els aliments contaminats i els que no ho estan, bé pel fet d'ésser portadors d'un microorganisme patògen o perquè pateixen una malaltia.⁷⁻⁹

Els portadors sans ho són fonamentalment de bacteris enteropatògens al budell i de *S. aureus* a la mucosa nasal o a la pell. Aquests també són els principals microorganismes involucrats en malalties vehiculades per aliments. Quan el manipulador pateixi diarrea, vòmits, angines, febre, refredats, ferides, infeccions cutaneomucoses o icterícia, ho ha de comunicar tot seguit

a la direcció de l'establiment, que haurà de decidir, mitjançant consulta mèdica, si la persona afectada ha de suspendre la seva feina habitual fins que es recuperi, o cal canviar-lo a una feina que no comporti la manipulació d'aliments. En el cas que es decideixi que el manipulador pot romandre al lloc de treball, s'haurà d'extremar la higiene personal i la manipulació correcta. Si es tracta de pacients amb lesions cutànies se'ls hauria de separar de la manipulació d'aliments cuinats o que s'han de servir sense tractament posterior.

Si la persona afectada ha de suspendre la seva feina habitual haurà de ser exclosa de la manipulació mentre continuï amb símptomes, almenys fins a un període d'entre 2 i 7 dies després de no presentar-ne (taula 24). Els manipuladors que han de preparar aliments per consumir crus o sense cocció posterior suposen més risc, i per tant hauran de seguir molt estrictament, i fins i tot ampliar, les precaucions esmentades, després d'haver patit gastroenteritis o altres malalties transmissibles; pot ser recomanable destinar-los transitòriament a altres feines que no comportin contacte directe amb aliments. Els reconeixements clínics i/o la recollida de mostres clíniques dels treballadors asimptomàtics només estan indicades en la investigació de brots de malalties transmeses pels aliments, ja que poden ajudar a determinar la font de contagi i el paper d'aquestes persones manipuladores en la transmissió de la malaltia.

La font usual de contaminació per salmonel·les, campilobacteri, *C. perfringens*, vibrions, yersínies i altres zoonosis sol ser el consum d'aliments crus o d'origen animal, més que el possible paper de les persones manipuladores, però una mala higiene personal per part d'aquestes contribueix a l'aparició de brots per estafilococs, shigel·les, hepatitis A i norovirus.¹⁰

Quan en el curs de la investigació d'un brot de toxiinfecció alimentària es descobreix la implicació directa de la persona manipuladora, però també si aquesta pateix determinades malalties encara que no tinguin una relació directa amb un brot epidèmic, pot estar indicada l'exclusió de la feina.

Els locals on es manipulen aliments haurien de disposar de farmaciola de primers auxilis per al tractament immediat de ferides, cremades i altres lesions, i per al recobriment d'aquestes. Quan les ferides siguin importants, s'infectin o no cicatritzin normalment s'haurà de consultar el metge.

A la taula 25 s'indica les normatives de la legislació vigent relativa a la higiene dels productes alimentaris.

Taula 24. Criteris microbiològics per a la reincorporació a la feina de les persones amb risc de transmetre la infecció

Microorganisme	Malalt actualment asimptomàtic	Contacte asimptomàtic amb un cas
<i>Aeromonas</i>	–	–
<i>Bacillus cereus</i>	–	–
<i>Campylobacter</i>	–	–
<i>Vibrio cholerae</i> O1, O139	2 coprocultius negatius (24 h)	2 coprocultius negatius (24 h)
<i>Clostridium perfringens</i>	–	–
<i>Cryptosporidium</i>	–	–
ECVT	2 coprocultius negatius (48 h)	–
ECEP	–	–
Giàrdia	–	–
Hepatitis A	7 dies després de la icterícia	–
Norovirus	–	–
Rotavirus	–	–
<i>Salmonella</i>	2 coprocultius negatius (48 h)	2 coprocultius negatius (48 h)
<i>Salmonella</i> serovar Typhi	Categoria A:** 6 coprocultius negatius (en intervals de dues setmanes) començant dues setmanes després de l'acompliment del tractament antibiòtic Altres: 3 coprocultius negatius (1 setmana)	3 coprocultius negatius
<i>Shigella</i>	2 coprocultius negatius (48 h)	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	Guariment de les lesions	5 dies mentre dura el tractament sempre que s'estigui segur que és productor de toxines
<i>Yersinia enterocolitica</i>	–	–

ECVT: *Escherichia coli* verotoxigènica; ECEP: *Escherichia coli* enteropatogènica.

* En tots els casos hi haurà exclusió mentre el malalt presenti símptomes, i almenys fins a dos dies després de no presentar-ne.

**Categoria A: Persones amb perill elevat de contaminar aliments o de contagiar altres persones, com:

- Manipuladors que preparen o serveixen aliments que no seran cuinats posteriorment.
- Personal d'infermeria que prepara menjar o treballa en sales de nadons i unitats pediàtriques de cures intensives, o malalts immunodeprimits.
- Infants menors de cinc anys que assisteixen a llars d'infants o escoles.
- Altres persones que per diverses raons no mantinguin una higiene personal estricta.

Taula 25. Legislació relativa a la higiene dels productes alimentaris i la seva manipulació

Normativa comunitària

Reglament (CE) núm. 852/2004, del Parlament Europeu i el Consell, relatiu a la higiene dels productes alimentosos. (DOUE L 139, de 30 d'abril de 2004)

Normativa estatal

RD 2207/1995, de 28 de desembre, pel qual s'estableixen les normes d'higiene relatives als productes alimentosos. (BOE núm. 50, de 27 de febrer de 1996)

RD 3484/2000, de 29 de desembre, pel qual s'estableixen les normes d'higiene per a l'elaboració, distribució i comerç de menjars preparats. (BOE núm. 11, de 12 de gener de 2001)

RD 202/2000, d'11 de febrer, pel qual s'estableixen les normes relatives als manipuladors d'aliments. (BOE núm. 48, de 25 de febrer de 2000)

Normativa autonòmica

Llei 7/2003, de 25 d'abril, de protecció de la salut. (DOGC núm. 3879, de 5 de maig de 2003). Deroga parcialment la Llei 15/1983.

Llei 15/1983, de 14 de juliol, de la higiene i el control alimentaris. (DOGC núm. 347, de 22 de juliol de 1983). Derogada parcialment per la Llei 7/2003.

Decret 208/2001, de 24 de juliol, pel qual es regulen les condicions per a l'exercici d'activitats de formació de manipuladors d'aliments que es desenvolupen a Catalunya per part d'entitats autoritzades. (DOGC 3443, d'1 d'agost de 2001)

Bibliografia

1. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Decret 208/2001, de 24 de juliol, pel qual es regulen les condicions per a l'exercici d'activitats de formació de manipuladors d'aliments que es desenvolupen a Catalunya per part d'entitats autoritzades. DOGC núm. 3443, d'1 d'agost de 2001:12176.
2. Comisión Europea. Reglamento (CE) 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los productos alimenticios. Diario Oficial de las Comunidades Europeas núm. 139, de 30 de abril de 2004: 1-54. Disponible a: <europa.eu.int/eur-lex/pri/es/oj/dat/2004/l_139/l_13920040430es00010054.pdf> [consultat: 8 d'agost de 2005]
3. Ministerio de Sanidad y Consumo, España. Agencia Española de Seguridad Alimentaria [web en línia]. Disponible a: <www.aesa.msc.es/aesa/web/AESA.jsp> [consultat: 8 d'agost de 2005]
4. Departament de Salut, Generalitat de Catalunya. Salut Alimentaria. Formació de manipuladors d'aliments [web en línia]. Última actualització: 24 de març de 2004. Disponible a: <www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/html/ca/aliments/manipul1.htm> [consultat: 8 d'agost de 2005]
5. Ministerio de Sanidad y Consumo, España. Real Decreto 202/2000, de 11 de febrero, por el que se establecen las normas relativas a los manipuladores de alimentos. BOE núm. 48, de 25 de febrero de 2000: 8294-8297. Disponible a: <www.boe.es/boe/dias/2000-02-25/pdfs/A08294-08297.pdf> [consultat: 8 d'agost de 2005]
6. Departament de Salut, Generalitat de Catalunya. Salut Alimentaria. Normes per manipular correctament els aliments [web en línia]. Última actualització: 24 de març de 2004. Disponible a: <www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/html/ca/aliments/csam_2.htm> [consultat: 8 d'agost de 2005]
7. Bryan FL. Factors that contribute to outbreaks of foodborne disease. J Food Prot 1978; 41: 816-827.
8. Roberts D. Factors contributing to outbreaks of food poisoning in England and Wales 1970-1979. J Hyg (Lond) 1982; 89: 491-498.
9. Angelillo IF, Viggiani NM, Rizzo L, Bianco A. Food handlers and foodborne diseases: knowledge, attitudes, and reported behavior in Italy. J Food Prot 2000; 63: 381-385.
10. The prevention of human transmission of gastrointestinal infections, infestations, and bacterial intoxications. A guide for public health physicians and environmental health officers in England and Wales. A working party of the PHLS Salmonella Committee. Commun Dis Rep CDR Rev 1995; 5: R 157-172.

8. Investigació d'un brot de toxiinfecció alimentària

La sospita d'un brot epidèmic implica sempre una investigació. En el cas de les toxiinfeccions alimentàries es considera que un brot és la presentació de dos o més pacients amb una síndrome clínica similar, que inicien símptomes després de consumir el mateix aliment si l'anàlisi epidemiològica implica aquest aliment com a font de la malaltia.¹ Així mateix es recomana investigar un sol cas de malalties infreqüents com el botulisme, la intoxicació per bolets o la intoxicació química.

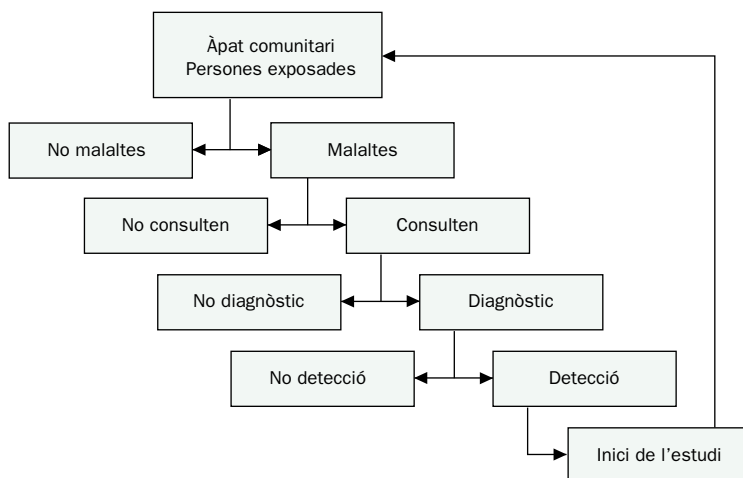
Cal subratllar la importància de l'anàlisi epidemiològica, perquè sovint en les toxiinfeccions alimentàries no es disposa de mostres per aportar proves microbiològiques sobre els agents i les fonts d'infecció. Tanmateix, actualment es considera que els estudis epidemiològics analítics són una prova suficient per imputar causalitat o responsabilitat a un aliment o establiment comercial.

Per tant, les finalitats dels estudis de les toxiinfeccions són les següents:^{2,5}

- Realitzar una recerca etiològica per identificar l'agent causal, l'aliment implicat, les fonts d'infecció i els factors coadjuvants. Un brot és un incident amb gran repercussió comunitària i s'ha d'esbrinar la causa que expliqui que un grup de persones hagi emmalaltit.
- Establir mesures de control per evitar l'aparició de casos nous i prevenir altres brots (eliminar els aliments responsables, corregir els defectes de manipulació i controlar els manipuladors portadors).
- Ajudar a dirimir els conflictes legals que es puguin generar entre determinats establiments i els afectats.
- Contribuir a la vigilància i l'anàlisi epidemiològica. Les dades obtingudes a partir de totes les investigacions d'un territori indicaran els punts crítics en la producció, el processament i la preparació dels aliments, cosa que permetrà endegar programes de control adequats.

El pas del temps dificulta l'estudi de les toxiinfeccions alimentàries. El període de temps transcorregut des que un grup de persones consumeixen l'aliment fins que s'inicia l'estudi del brot comporta diferents aspectes que poden comprometre la validesa de l'estudi, com l'oblit dels fets per part de les persones en risc, la disminució de la possibilitat d'obtenir mostres clíniques i d'aliments, o la possibilitat de consum reiterat dels aliments contaminats. Aquest període sol ser molt variable, i està en funció dels esdeveniments següents: període d'incubació de la malaltia, patogenicitat de l'agent infecciós, temps que necessita el metge per realitzar el diagnòstic i la notificació.^{6,7} (Figura 3.)

Figura 3. Importància del factor temps en les toxiinfeccions alimentàries



La investigació s'inicia quan es té coneixement de la sospita de l'existència d'un brot, i té l'objectiu d'explicar la causa que ha fet que una proporció de persones exposades a uns aliments (cohort) hagi emmalaltit. La detecció precoç dels brots resulta fonamental per tal de reduir al màxim el període de temps fins al moment de l'inici de l'estudi.

Les etapes de la investigació d'un brot epidèmic són les següents: confirmació de la sospita del brot, formulació d'una hipòtesi sobre la seva causalitat, planificació i execució de l'estudi (incloses les mesures de control), anàlisi epidemiològica de les dades obtingudes per acceptar o rebutjar la hipòtesi, i elaboració de conclusions i recomanacions.⁶⁻⁸

8.1 Notificació i confirmació de la sospita del brot

La valoració i el tractament correcte de les notificacions de malalties relacionades amb el consum d'aliments és fonamental per a l'èxit de l'estudi. Aquest és el primer contacte de l'Administració amb el personal mèdic i les persones afectades, i és un aspecte vital de la investigació.⁸

8.1.1 Declaració de la sospita

Les declaracions de sospites de brots les han de fer els metges de forma urgent, en menys de vint-i-quatre hores, per telèfon, fax o qualsevol altre mitjà a les unitats de vigilància epidemiològica dels serveis territorials de salut del Departament de Salut, o al Servei d'Epidemiologia de l'Agència de Salut Pública de Barcelona si s'escau en aquesta ciutat.² Tanmateix, a

la pràctica, bona part de les notificacions es fan des de la direcció d'escoles, cases de colònies, residències d'avis, empreses organitzadores d'àpats col·lectius, particulars afectats o els seus familiars, o responsables de menjadors col·lectius, entre d'altres.

Durant aquesta conversa inicial és important fer les indicacions pertinents per tal d'obtenir mostres clíniques de les persones malaltes i els aliments. També s'ha de preguntar sobre la filiació d'altres persones que hagin assistit a l'àpat sospitós i d'aquelles pròximes que sense que hi hagin assistit estiguin malaltes, en particular si presenten la mateixa síndrome clínica.^{7,8} És recomanable registrar una informació mínima i uniforme per a totes les comunicacions, que es pot recollir en un formulari amb els apartats següents:

- Dia i hora d'inici dels primers símptomes
- Nombre de les persones malaltes
- Signes i símptomes principals
- Aliments que poden estar relacionats amb la malaltia
- Llocs on els malalts hagin menjat durant les 72 hores anteriors
- Tipus d'agent aïllat

8.1.2 Informació sobre els casos i les circumstàncies concurrents

Independentment de la font de notificació, s'ha d'intentar confirmar el diagnòstic mitjançant la història clínica de cada cas i, si fos possible, per l'examen de femta, i altres mostres clíniques o d'aliments. A més, s'ha de constatar l'existència d'una agregació temporal i/o espacial dels casos.

Per a això s'ha de fer una entrevista detallada a cada persona que ha estat identificada en la comunicació inicial, a fi de confirmar la informació mínima a què s'ha fet referència abans. En preguntar a una persona afectada, l'entrevistador/a s'ha d'identificar i explicar el motiu de la visita. Una actitud professional, amigable i confidencial és essencial per desenvolupar l'entrevista.

En aquests primers moments es pot fer servir un mateix formulari per a cada malalt, però deixant que la persona pugui descriure la seva malaltia i els aliments, així com els esdeveniments que cregui que hi estan associats. Mai no s'han de suggerir les respostes.

Cal preguntar per:

- Visites, viatges o reunions efectuades les últimes 72 hores, les quals poden donar la clau de la font comuna.
- Data i hora dels primers símptomes i la presència dels signes i símptomes de la malaltia (nàusea, vòmits, dolor abdominal, diarrea, nombre de deposicions, tenesme, calfreds, febre i altres manifestacions clíniques).

- Aliments consumits amb anterioritat a l'inici de la malaltia, almenys 72 hores abans. Si les persones tenen dificultats per recordar, es pot preguntar pels aliments que consumeixen habitualment i per esdeveniments quotidians. Això pot estimular el record del consum d'aliments diferents dels habituals.

Els símptomes clínics, el possible període d'incubació o el tipus d'aliment poden orientar l'interrogatori i fins i tot l'agent responsable^{5,9} (taules 2 i 23). Així, cal tenir en compte que amb períodes d'incubació inferiors a una hora amb predomini de vòmit s'ha de pensar en una intoxicació per un producte químic; amb un període d'incubació d'1 a 6 hores, també amb inici sobtat i predomini de nàusea i vòmit, cal pensar en *S. aureus*, *B. cereus*, metalls pesants o intoxicació per bolets de període d'incubació curt. Amb períodes d'incubació superiors a 8 hores, amb predomini de diarrea, s'ha de pensar en etiologia bacteriana, encara que el caràcter de la diarrea, la presència de sang a la femta, la febre, el possible aliment involucrat i l'existència de casos secundaris poden ajudar a precisar el bacteri sospitat. Amb períodes d'incubació d'entre 12 i 48 hores, amb predomini de nàusees i vòmits i una evolució ràpida cap a la curació, s'ha de considerar *Novirus* i altres calicivirus.

Altres microorganismes presenten síndromes clíniques diferents i períodes d'incubació molt superiors a 72 hores, com és el cas de l'hepatitis A, la febre tifoide o la brucel·losi.

En brots de malalties amb període d'incubació llarg, en brots de llarga duració o quan és difícil sospitar d'un menjar responsable, es poden fer altres aproximacions, com per exemple, confeccionar una llista d'aliments ja identificats com a vehicles de la malaltia sospitosa en altres brots (llet i derivats en el cas de la brucel·losi), o dels aliments comprats pels malalts en els límits del període d'incubació de la malaltia, o preguntar sobre el consum recent d'aliments preferits pel malalt. També es podria preguntar pels restaurants freqüentats.^{8,10,11}

Aquest és un moment ideal per obtenir mostres clíniques.¹² Les persones en la fase aguda de la malaltia són més col·laboradores, i determinats patògens només es poden detectar durant pocs dies després que hagi aparegut la malaltia. Si disposessin d'aliments consumits 72 hores abans també caldria prendre'n mostres.

8.1.3 Establir una definició de cas

La definició de cas és un criteri estàndard per classificar els individus implicats en un brot. La informació aportada per la història dels primers casos ajuda a elaborar aquesta definició de cas, que facilitarà classificar les persones exposades (en casos i no casos).

Els criteris de la definició de cas haurien de ser simples i objectius. Per exemple, en un brot de gastroenteritis un cas es pot definir com una persona en risc que desenvolupa diarrea o vòmits en un període de temps especificat. La diarrea s'acostuma a definir com tres o més deposicions líquides durant un període de 24 hores. Hi ha molts exemples en la literatura mèdica de definició de cas utilitzats durant investigacions de brots epidèmics. En el decurs de la investigació cada cas nou s'hauria de comparar amb aquesta definició per veure si forma part del brot.

8.1.4 Verificar l'existència del brot

De vegades la informació aportada durant la comunicació inicial palesarà l'existència del brot pel nombre de persones que presentin els mateixos signes i símptomes coincidint en el temps. Tanmateix, quan hi ha poques persones afectades, o be resideixen en diferents municipis, o en casos de malalties que es transmeten fàcilment persona a persona, pot ser més difícil confirmar el brot de toxiinfecció. També poden simular una toxiinfecció alimentària malalties associades amb el mateix lloc (intoxicacions per monòxid de carboni) i amb altres factors comuns (consum d'aigua). Per tant, tant aviat com sigui possible es realitzarà una avaluació preliminar de les dades per verificar l'existència d'associacions temporals, de llocs o de característiques personals.

Les associacions temporals es refereixen a l'inici dels casos en el decurs d'unes hores o dies concrets. Si es tracta d'una exposició comuna i en el mateix moment els casos haurien d'iniciar la simptomatologia en l'interval de temps corresponent al del període d'incubació (màxim i mínim) de la malaltia que se sospita.^{7,13} Quan es pensa en un microorganisme concret, el moment del consum de l'aliment es pot estimar si es resta de la mediana dels casos (temps necessari perquè hagin aparegut el 50% dels casos) la mediana del període d'incubació de la malaltia sospitada.^{7,13} Les associacions de lloc també es poden establir per la compra d'aliments en un mateix establiment, o assistir al mateix esdeveniment. Les associacions respecte a les característiques personals farien referència a altres experiències comunes, com poden ser tenir la mateixa edat, el mateix sexe, la mateixa ocupació, o anar a la mateixa escola.

8.2 Formulació d'una hipòtesi

És important que tot l'estudi es fonamenti en una hipòtesi sòlida i congruent. Les associacions establertes o suggerides per la investigació fins aquest moment han de permetre formular aquesta hipòtesi que justifiqui un estudi més ampli i detallat, i a la vegada realitzar activitats de control. Els símptomes clínics de les persones malaltes, l'aliment sospitós (taxa d'atac més

alta) i el període d'incubació poden orientar l'etiologia probable del brot. En general la hipòtesi hauria d'explicar el tipus de malaltia, els aliments responsables, la data i lloc del consum (establiment), el lloc i la manera de contaminació, la població exposada i altres relacions causals.⁸

8.3 Instauració de mesures de control

Les mesures de control s'han d'instaurar al més aviat possible, segons hipòtesis plausibles, sense esperar els resultats de tota la investigació. Aquest aspecte adquireix una importància cabdal en casos de malalties greus (botulisme), amb possibilitats de propagació (shigel·losi) o quan la població exposada és molt susceptible, com en el cas d'infants, persones malaltes o avis.¹⁴⁻¹⁷

El tipus de mesura vindrà determinat per l'agent etiològic sospitat, els aliments implicats, la distribució d'aquests aliments o la relació del brot amb menjadors col·lectius. Es podrien aplicar mesures com evitar la producció de l'aliment sospitós, modificar els menús i evitar aliments que l'anàlisi epidemiològica ha identificat com d'alt risc, o modificar operacions com cuinar aliments a determinades temperatures i servir-los ràpidament.

Les suspensions provisionals es poden eliminar després d'introduir les correccions, o bé si durant la investigació es determina que l'aliment o l'establiment no hi estan implicats.

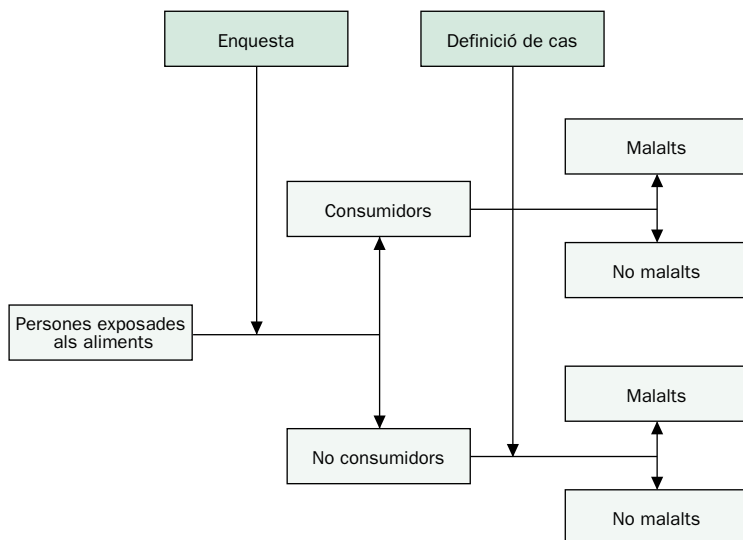
8.4 Planificació i execució de la investigació

Amb l'objectiu d'avaluar les hipòtesis enunciades, s'ha de dur a terme un estudi, sobre el terreny, que permeti obtenir la informació pertinent.

Els tipus de dissenys utilitzats són molt variables:^{18,19} cohorts retrospectives, casos i controls i totes les possibilitats de dissenys híbrids. En part, el tipus d'estudi està en funció del tipus d'exposició (puntual o consum reiterat) i del període d'incubació de la malaltia.

En brots amb període d'incubació curt (no superior a 72 h), quan la investigació s'inicia ràpidament, i en general quan la població a risc està molt ben delimitada, el disseny més recomanable és el de cohorts retrospectives, ja que permet calcular directament les taxes d'atac desagregades per l'exposició a cada aliment, així com el risc relatiu, que expressa la força de l'associació entre un determinat aliment i la malaltia i el risc atribuïble, que expressa la proporció de la malaltia que s'explica pel consum d'un determinat aliment (apartat 8.5.2). Per això, la majoria de consideracions que es fan en aquest apartat es referiran a aquests tipus d'estudi (figura 4). Tanmateix, circumstàncies diverses obliguen en la pràctica a utilitzar altres dissenys menys potents.

Figura 4 . Estudi de cohorts retrospectives per a la investigació d'una toxiinfecció alimentària



En malalties de període d'incubació llarg (febre tifoide, hepatitis A, brucel·losi, etc.) i quan no hi ha una exposició puntual per a tots els casos, s'empren dissenys híbrids o els estudis de casos i controls.²⁰⁻²² En aquest últim disseny, el problema metodològic més important és seleccionar els controls adequats.

Per a l'elaboració de l'estudi epidemiològic s'hauran de tenir en compte els elements següents:

- La població en risc. Si no n'hi ha, els casos addicionals i una llista de controls potencials.
- Instruments per recollir la informació (qüestionari).
- Recollida de la informació.
- Obtenció de mostres clíniques.
- Planificació i execució de la visita a l'establiment. En aquesta visita s'hauria d'entrevistar el responsable i els manipuladors d'aliments. També s'hauria d'analitzar el risc de cada aliment, recollir mostres, així com investigar les fonts d'infecció i els mecanismes de contaminació.

Per estudiar tots aquests aspectes detalladament cal un equip multidisciplinari compost per especialistes en medicina assistencial, epidemiologia, veterinària i microbiologia.

8.4.1 La població en risc

Conèixer la població exposada és imprescindible per dur a terme un estudi de cohorts retrospectives, obtenir mostres aleatòries de les persones exposades o confeccionar un cronograma per recollir les dades.

És convenient disposar d'una llista completa i nominal de les persones exposades amb adreces i telèfons. Es pot obtenir de la persona que hagi organitzat l'àpat sospitós (àpats de noces, celebracions d'aniversaris, comunions) o de les direccions de les institucions implicades (col·legis, residències d'avis, etc.). Altres vegades l'han de confeccionar els mateixos investigadors. Si això no fos possible cal habilitar altres mecanismes per detectar casos addicionals i persones en risc, mitjançant les persones ja entrevistades, els llibres de reserva de places, les targetes de crèdit emprades als restaurants, i les persones ateses en serveis d'urgències i centres d'atenció primària.

També cal determinar les persones que poden ser casos secundaris en l'àmbit familiar, professional o de relació.

8.4.2 Instruments per recollir la informació: els qüestionaris

Hi ha dues modalitats de qüestionari, una de nominal per a cada una de les persones exposades i una altra amb format únic (*line list*), que consisteix en una matriu de dades on es registraria la informació de tots els individus de manera que cada fila correspon a un individu i cada columna a una variable. De fet, quan es fan servir qüestionaris nominals després s'han de buidar les dades a una matriu abans d'analitzar els resultats.

D'altra banda, les circumstàncies de cada brot imposen el tipus de model que cal fer servir. Si es disposa d'enquestadors ensinistrats es pot emprar el format únic, i quan s'han d'administrar qüestionaris autoemplenables, lògicament s'ha d'utilitzar un qüestionari per a cada individu.^{7,8}

En tot cas, aquests qüestionaris han de permetre recollir informació fiable de totes les persones exposades sobre els aspectes següents:^{7,8}

- Filiació: noms, cognoms, edat, sexe, adreça, municipi i telèfon.
- Consum d'aliments i altres factors de risc.
- Data i hora de primer símptoma.
- Característiques dels símptomes i signes.
- Altra informació d'interès: duració de la malaltia, hospitalitzacions, tractaments i defuncions.

Els aliments i els símptomes i signes sobre els quals es recollirà informació han de ser exactament els mateixos per a tots els individus.

8.4.3 Recollida de la informació

El nombre de persones entrevistades dependrà de la possibilitat de disposar d'una llista nominal de persones exposades, del nombre de consumidors i consumidores, de la proporció de persones afectades, el nombre d'entrevistadors i entrevistadores i el tipus de qüestionari.

Com a orientació, es recomana entrevistar totes les persones exposades si no són més de 100. Si n'hi hagués més se'n podria obtenir una mostra representativa (aleatòria, sistemàtica, estratificada, per conglomerats, o una combinació d'aquests) a partir de la llista nominal. La mida d'aquesta mostra (fracció de mostreig) pot ser variable, i en part la condicionarà la disponibilitat de persones entrevistadores i el temps per fer l'estudi. En general, és preferible fer una recollida de dades acurada i detallada en poques persones que no pas entrevistar una proporció gran d'individus exposats si això dificulta el control de la qualitat de les respostes. Respecte al tipus d'enquesta, l'ideal és fer entrevistes personals amb enquestadors i enquestadores ensinistrats.^{8,19}

L'entrevista telefònica dóna resultats fiables i és especialment útil quan les persones exposades resideixen en diferents municipis, ja que permet estalviar temps i desplaçaments.

Els qüestionaris autoemplenables són una possibilitat que cal tenir en compte en els casos en què el nombre de persones afectades sigui molt elevat, quan es tracti de persones amb un nivell cultural acceptable, i quan no es disposi de temps ni de personal per a la recollida de dades (per exemple: toxiinfeccions en menjadors universitaris o instituts de secundària). Es recomana donar unes instruccions mínimes per emplenar el qüestionari, i aquest ha de permetre respostes clares i no induir a errors. Les enquestes es poden recollir personalment o bé es poden enviar per correu. Una limitació important d'aquesta última modalitat és que disminueix la proporció de respostes.^{8,19}

Quan hi participen diferents persones entrevistadores s'ha d'assegurar que la recollida de dades serà uniforme (els mateixos aliments, signes i símptomes per a totes les persones exposades), i cal remarcar la importància de no induir respostes i deixar en blanc la informació sobre variables que no recordi el pacient (per exemple: el consum d'algun aliment). Idealment aquests entrevistadors i entrevistadores haurien de desconèixer els indicis sobre la implicació d'algun aliment. Un cop elegides les persones exposades (o els casos i els controls), s'assignen als entrevistadors i entrevistadores i s'elabora un cronograma per recollir la informació.

8.4.4 Registre de la informació

Els ordinadors poden ajudar a dur a terme diferents tasques, com completar una recerca bibliogràfica, calcular la precisió de la mida de la mostra, dis-

senyar un qüestionari, entrar les dades, tabular els resultats, fer càlculs estadístics o representacions gràfiques.

Hi ha diferents programes d'utilitat especial per a l'anàlisi epidemiològica, com l'Statistical Analysis System (SAS, <www.sas.com>) i els Statistics Programs for the Social Sciences (SPSS, <www.spss.com>). Tanmateix, aquests programes comercials són cars i sovint no s'ajusten a les necessitats pròpies de la investigació d'una toxiinfecció.

L'Organització Mundial de la Salut i els Centers for Disease Control and Prevention (CDC) d'Atlanta han desenvolupat un programa anomenat Epi Info que és de domini públic i que es pot obtenir de la pàgina web dels CDC (<www.cdc.gov/epiinfo/>), que s'adapta especialment bé a les necessitats d'aquest tipus d'investigacions.⁸

Epi Info té el subprograma "Make view" que permet dissenyar el qüestionari per entrar les dades a partir d'una finestra de diàleg que apareix després d'assenyalar amb el ratolí qualsevol zona de la pantalla, i permet decidir si la variable és numèrica, de tipus text o data, i la seva etiqueta.

Quan es disposa dels qüestionaris en paper, aquests s'hauran d'informatitzar a la base de dades dissenyada a través del subprograma "Enter". En aquesta fase, els qüestionaris sovint tenen abreviacions, sinònims, notes marginals i *missings*, i l'entrada de dades representa una oportunitat per depurar aquestes dades.

Durant l'entrada de dades es recomana alternar l'entrada de casos i controls per evitar biaixos quan s'han de prendre petites decisions davant de dubtes que generen alguns qüestionaris. Si hi ha més d'una persona en l'entrada de les dades, cada una d'elles hauria d'entrar un nombre similar de qüestionaris de casos i controls. Per evitar duplicitats, també és recomanable marcar amb un senyal els qüestionaris que ja s'han entrat.

Després d'entrar tots els qüestionaris, s'hauria de realitzar una validació i comprovar que totes les dades són correctes. Fins i tot, alguns investigadors s'estimen entrar dos cops de forma separada els qüestionaris en dos arxius diferents i després comparar-los per detectar errors.

8.4.5 Recollida de mostres clíniques

El tipus de mostra dependrà del quadre clínic. En malalties amb predomini de diarrea i un període d'incubació intermedi (8-72 hores) s'obindrà femta. Aquesta és, amb diferència, la mostra més corrent. En els casos que predominin els vòmits i se suposi un període d'incubació curt (1-8 hores) es pot recollir mostres d'aquest espècimen. En pacients febrils, malalties greus (botulisme) o possible etiologia vírica també pot ser útil la mostra de sang.^{12,23}

És important obtenir mostres clíniques durant els dos primers dies del quadre clínic, i abans que el pacient comenci a prendre alguna medicació. Tanmateix les mostres preses posteriorment també poden ser útils. En aquest cas cal anotar el tipus de medicament i les dosis.

Vòmits

En el cas que el pacient presenti vòmits se l'hauria d'instruir per tal que ho faci en un recipient estèril o en un got bullit amb aigua durant 15 minuts. Després, amb una cullera hauria de transferir la mostra a l'envàs estèril. Si no s'enviés immediatament al laboratori s'hauria d'afegir mitjà de transport i refrigerar-la (sense congelar).

Femta

També en aquest cas cal subministrar al pacient el material adient i instruir-lo per tal que prengui la mostra de forma correcta. El laboratori ha de fer les recomanacions per a la recollida i el transport segons que es tracti d'estudiar bacteris, paràsits, virus o els tres grups de microorganismes alhora.

Cal que el pacient faci la deposició en un orinal ben rentat amb aigua (sense lleixiu ni altres antisèptics) o en el mateix vàter, posant paper o plàstic d'embolicar per tal d'evitar que la deposició contacti directament amb la superfície del vàter. Després, amb un depressor lingual de fusta o cullereta introduirà la femta en un pot estèril que tancarà acuradament.

Si no es pot assegurar la procedència de les mostres, es recomana que personal ensinistrat faci frotis rectals. La majoria de bacteris es poden cultivar a partir d'aquestes mostres, i a més aquest mètode facilita l'emmagatzematge i el transport. S'han de fer dos frotis per persona humidificant prèviament la torunda en un medi de transport (per exemple: medi de Cary-Blair) introduint la torunda en el recte (dos o tres centímetres), fent-la rodar amb una pressió suau i després retornant la torunda al tub amb el medi de transport.

S'aconsella recollir mostres d'un mínim de 10 pacients (si el nombre de persones afectades arriba a aquesta xifra) i també pot ser útil recollir-ne d'una mostra de 10 controls (especialment si se sospiten agents com *E. coli*).

Els mitjans de transport preserven els patògens i eviten el sobrecreixement de la flora acompanyant. Els envasos preparats al comerç per a mostres de femta per detectar paràsits no són útils per a bacteris o virus perquè normalment contenen conservants com la formalina. Si les mostres s'analitzen en les primeres 48 hores, es poden refrigerar a 4 °C; per a períodes més llargs s'haurien de congelar a -20 °C.

Sang

Les mostres de sang es poden emprar per determinar la presència d'anticossos o toxines. La determinació de toxines es fa si se sospita botulisme. La d'anticossos s'empra fonamentalment per al diagnòstic de la brucel·losi i altres malalties sistemàtiques, però és poc eficaç per al diagnòstic de les gastroenteritis. Es fa l'extracció de 10-20 ml de sang i es transfeix a un tub estèril, es deixa que coaguli i després s'envia ràpidament al laboratori.

Cal identificar tots els recipients amb el nom del pacient i la data de recollida amb un retolador de tinta insoluble. S'ha d'emplenar el formulari de petició analítica per a cada mostra, les quals es posaran en neveres portàtils i s'enviaran al laboratori pel mitjà de transport ràpid, etiquetades i empaquetades adequadament. Si està indicat, s'han de prendre mostres noves entre 2 i 4 setmanes més tard.

8.4.6 Planificació i execució de la visita o inspecció a l'establiment

La visita s'haurà de planificar acuradament tenint en compte tota la informació reunida fins al moment. Es prepararà l'equip necessari (actes d'inspecció, formularis, equip de recollida de mostres i altres aparells com termòmetres), però sempre tenint en compte que la rapidesa a l'hora de presentar-se a l'establiment és un factor prioritari.^{24,26} És necessari contactar amb el professional que controla oficialment l'establiment afectat i invitar-lo a formar part de l'equip. Aquesta persona, per la seva feina, disposa de molta informació que sovint no té per què sortir reflectida a les actes d'inspecció rutinàries. Les actes d'inspecció anteriors poden suggerir problemes, però en general no informen sobre la situació actual.

La inspecció que cal fer ha d'anar encarada als aliments i les manipulacions. És a dir, no és una inspecció rutinària. Cal constatar que les matèries primeres utilitzades tenen un origen autoritzat, les seves condicions d'emmagatzematge, investigar quins processos s'han fet per elaborar els àpats, les manipulacions, els possibles tractaments tèrmics aplicats, els hàbits de treball i els hàbits higiènics; és a dir, ens interessa investigar la possible causa i via de contaminació dels aliments. Una inspecció d'aquest tipus requereix molt més temps que una inspecció rutinària, perquè necessita molta feina d'observació (dels possibles manipuladors que en aquell moment puguin estar treballant), molta feina de conversa amb les persones presents, i molta feina d'investigació.²⁴

8.4.6.1 Entrevista a les persones responsables i als manipuladors de l'establiment

En arribar a l'establiment cal presentar-se al responsable i explicar-li els objectius de la inspecció, insistint que descobrir els possibles factors coad-

juvants del brot servirà per prendre mesures preventives i, fins i tot, per detectar si el factor causant ha estat extern al seu establiment. Cal fer-li entendre que es pot beneficiar indirectament de la inspecció, perquè si es detecten pràctiques incorrectes es podran corregir hàbits de treball, i així intentar minimitzar el risc d'altres brots en el futur.

És freqüent que els inspectors siguin rebuts amb recel. La conversa amb el responsable de l'establiment ha de contribuir a crear un clima cordial i de confiança mútua; per aconseguir això és recomanable informar el responsable de les accions que es faran a l'establiment. També cal informarlo que alguns factors que poden influir en la contaminació dels aliments i en la multiplicació dels gèrmens es poden haver donat abans que els aliments arribessin a l'establiment, i que aquestes possibilitats també es tindran en compte en la investigació.²⁴

Abans de començar la inspecció es demanarà al responsable de l'establiment els menús, les receptes, informació sobre el tipus de productes preparats, sobre el circuit que segueixen i els noms de les persones que treballen en tot el procés que segueix l'aliment sospitós. Es farà també un primer cop d'ull de les activitats que en aquell moment s'estiguin realitzant i s'anotaran els punts de risc, i si cal es prendran mostres d'aliments. En primer lloc s'intentarà agafar els aliments o les matèries primeres que quedin del que sobra de l'àpat implicat. Com que això a vegades no és possible, també es pot agafar mostres del mateix aliment o matèria primera, encara que no sigui el presumptament implicat (sobretot si és elaborat, ja que suposadament haurà sofert manipulacions o tractaments semblants).²⁴

Els manipuladors s'han d'entrevistar per separat. També pot ser molt útil l'entrevista de la resta de treballadors que hagin pogut observar les activitats (personal de neteja, cambrers, auxiliars de cuina). Se'ls ha de preguntar per tota la seqüència d'operacions fins que els aliments es van servir i consumir, posant especial èmfasi en la manipulació. També és molt important, en els menjadors col·lectius, la informació sobre els aliments preparats hores o dies abans del consum i les seves condicions d'emmagatzematge.

Els treballadors i treballadores que pensen que podrien resultar perjudicats per la seva possible implicació en el brot no sempre descriuen de forma precisa com es van manipular realment els aliments, i tendeixen a donar informació vaga. Per tant, si l'agent inspector sospita que la informació rebuda no és del tot certa, caldrà que faci les preguntes a altres persones que tinguin coneixement de l'operació. S'ha d'estar alerta sobre les incongruències entre les informacions facilitades per diferents persones i ser persistent fins a obtenir informació fiable.

Els manipuladors i manipuladores d'aliments han de ser examinats per descartar l'existència de grans, petites inflamacions a la pell, talls infectats i cre-

mades en àrees descobertes del cos. Així mateix és convenient preguntar si tenen alguna infecció en altres zones cobertes del cos, i sobre malalties recents, sobretot les de simptomatologia gastrointestinal, i comprovar els sistemes de control del personal per descobrir dades d'absentisme laboral.²⁴⁻²⁵

8.4.6.2 Diagrama de fluxos de les operacions

A partir de la informació obtinguda del responsable de l'establiment i de les receptes del dia de l'esdeveniment, s'ha de dibuixar amb llapis el gràfic del flux de les operacions aplicades a cada un dels aliments que s'estan investigant. Aquest gràfic caldrà modificar-lo amb la informació obtinguda dels manipuladors i manipuladores d'aliments. Cada operació es representa amb un quadrat i fletxes que indiquin la direcció del flux i s'apuntarà el nom de la persona que ha dut a terme l'operació.

Amb la informació obtinguda es poden formular diverses hipòtesis, que es confirmaran preguntant a les persones involucrades i prenent mostres en els punts crítics de les operacions.

8.4.6.3 Anàlisi de les conductes de risc

A partir de la informació facilitada pels responsables de l'establiment i els treballadors i treballadores, s'ha d'esbrinar com van ser manipulats els aliments sospitosos de vehicular la toxiinfecció.

La investigació també s'ha de fer als locals on es van produir els aliments, i també s'ha de saber com es van transportar fins a les plantes de processament. En aquestes plantes, la investigació ha d'incloure com es va desenvolupar la matança, l'espetllat, el desplomtat, l'eviscerat, el rentat, el tractament per la calor, el refredament, la congelació, l'assecat, la fermentació, l'acidificació, el fumtat, l'envasat, l'emmagatzematge i altres operacions. Si és possible cal investigar les fases de transport i venda al detall. Si s'investiguen les operacions en establiments i llars domèstiques, s'ha de tenir en compte la recepció, l'emmagatzematge, la preparació, el cuinat, la manipulació postcuinat, el manteniment en calent, el refredament, el rescalfament i el servei. S'han d'investigar totes les fases de la cadena alimentària, cal elaborar una història completa del procés de preparació dels aliments sospitosos tenint en compte les matèries primeres i els ingredients, les persones que van manipular el producte, els procediments utilitzats, les fonts potencials de contaminació durant la manipulació i les condicions temps-temperatura a què es van exposar.

La història de la temperatura ha de començar en el moment en què els aliments hagin arribat a l'establiment i s'hi han d'incorporar totes les temperatures i els temps mentre el menjar ha estat emmagatzemat, transportat, cuinat, mantingut en calent, refredat i rescalfat; també com s'ha mantingut entre el servei de l'àpat i el moment del mostreig.

S'observaran les pràctiques higièniques dels treballadors i treballadores, les situacions que puguin portar a contaminacions encreuades i els mètodes de neteja. Les persones poden estar tenses en sentir-se observades, però al cap d'un temps, com que estaran ocupades, revelaran els seus hàbits i començaran a preparar els aliments de la forma habitual.

S'ha d'estar preparat per invertir tot el temps que sigui necessari a fer proves i observacions per estudiar si la relació temps-temperatura ha estat suficient per destruir patògens o no.

8.4.6.4 Recollida de mostres d'aliments

En una toxiinfecció, la recollida de mostres d'aliments i la seva anàlisi són una part important que pot confirmar les sospites, i permet demostrar la hipòtesi inicialment establerta.

Les mostres poden ser mostres clíniques dels aliments implicats o aliments frescos que puguin haver estat la via d'introducció d'algun patògen a l'àrea d'elaboració. Cal examinar les àrees d'emmagatzematge per si hi ha ingredients o aliments frescos que puguin haver passat per alt; també cal examinar les escombraries per si han llençat algun aliment o els seus envasos. Si no es troben els aliments sospitosos, es pot recollir mostres d'aliments elaborats posteriorment però de manera similar.

El diagrama de flux dels productes elaborats permet fer un seguiment de les fonts de contaminació, i suggereix si cal recollir mostres d'aliments frescos (com pollastre o ous), porcions d'aliments, sucs de les carns a les neveres o altres equipaments.

Cal tenir en compte que els ingredients poden ser la primera font de contaminació, i s'hauria de saber quins ingredients s'han afegit abans i després d'aplicar un procés tèrmic.

Es recolliran escovillonats de les superfícies de treball, ganivets, picadors amb els quals l'aliment sospitós hagi estat en contacte, per si ha tingut lloc una contaminació encreuada, sobretot si a la mateixa zona de treball s'han elaborat aliments crus i cuits. Les mostres de les superfícies s'haurien de prendre amb torundes humidificades en solucions estèrils (aigua de peptona al 0,1%, aigua destil·lada tamponada). Un cop efectuat el frotis, s'ha d'introduir la torunda en un medi enriquit pel patògen en qüestió. Els manipuladors també poden ser font de contaminació. A partir de l'enquesta realitzada als manipuladors durant la investigació i de les dades elaborades durant aquesta es pot determinar quines mostres cal recollir d'aquells manipuladors que hagin estat en contacte amb l'aliment sospitós.

Cal recollir informació dels manipuladors dels aliments sospitosos, observar si tenen petites zones d'inflamació a la pell, butllofes, talls infectats,

grans, i si és necessari caldrà un examen mèdic i la recollida de mostres de zones específiques (lesions, pell o femta).

Les mostres (ganivets, culleres, espàtules), cal recollir-les asèpticament, i introduir-les en pots o bosses de plàstic estèrils. Cal tenir en compte de no fer servir recipients de plàstic si s'investiguen organofosforats o metalls pesants, atès que es poden contaminar amb migracions del plàstic i interferir en l'anàlisi.

La quantitat de mostra que caldrà recollir serà la necessària per a totes les determinacions que s'hagin de fer, i se'n recomanen entre 200 g i 450 g o entre 200 ml i 500 ml; si no es disposa de més mostra es recollirà tota. Si és possible s'obtindrà l'aliment en el seu envàs original.

Cal identificar cada recipient i establir els sistemes legals adients que no permetin obrir les mostres, omplir els fulls de remesa al laboratori amb totes aquelles dades que puguin ser útils i enviar les mostres als Serveis Territorials de Salut al més ràpidament possible.

Les mostres peribles cal mantenir-les, fins arribar al laboratori, a la temperatura de 4 °C. No s'han de congelar les mostres ja que certs patògens moren ràpidament (*C. perfringens*). Les mostres dels aliments congelats cal mantenir-les congelades fins al moment de l'anàlisi. En el cas de productes comercials, es transportaran en el seu envàs original i, si escau, s'hi afegiran l'envàs o les restes d'envasos del mateix lot.

8.4.6.5 Investigació de la font d'infecció i els mecanismes de contaminació

Els animals poden estar infectats, o bé es poden infectar durant el transport i el sacrifici, per salmonel·la entèrica, *Y. enterocolitica*, *C. perfringens*, *S. aureus*, o altres patògens. Per tant, quan la carn arriba a la cuina molt sovint està contaminada. En els brots on se sospita l'etiologia per alguns d'aquests microorganismes, les mostres de porc, pollastre, mandonguilles i qualsevol altre tipus de carn poden ajudar a establir la font primària de contaminació. També s'haurien d'estudiar la freqüència i el sistema de neteja de l'equip (estrís, cuina o superfícies) i valorar les possibilitats de contaminacions encreuades entre aliments crus i cuinats. D'altra banda, els frotis de les superfícies d'aquests materials (taules, ganivets, etc.) i el cultiu de la mostra per al microorganisme implicat poden ajudar a establir el mecanisme de contaminació, especialment si es du a terme algun tipus de tipificació del microorganisme.

Els treballadors i treballadores també poden ser una font important d'infecció (*S. aureus*, *C. perfringens*, *S. enterica*, *Shigella* i d'altres). En el cas que se sospiti d'una toxiinfecció per *S. aureus* s'hauria de fer un frotis nasal a totes les persones que hagin manipulat o estat en contacte amb l'aliment, així

Taula 26. Anàlisi epidemiològica del factor implicat en un brot per *Norovirus*

Factor	Exposició				RR ^a	IC ^a 95%
	Sí		No			
	n/N	%	n/N	%		
Entrepans	34/45	75,6	4/12	33,3	2,3	1,0-5,1
Suc de fruita a la nit	28/42	66,7	10/15	66,7	1,0	0,7-1,5
Croissant	29/45	64,4	9/12	75,0	0,9	0,6-1,3
Suc de fruita de l'esmorzar	12/19	63,2	26/38	68,4	0,9	0,6-1,4
Melmelada	7/10	70,0	31/47	66,0	1,1	0,7-1,7
Crema de xocolata	21/29	72,4	17/28	60,7	1,2	0,8-1,7
Croquetes	35/51	68,6	3/6	50,0	1,4	0,6-3,1
Pollastre	24/35	68,6	14/22	63,6	1,1	0,7-1,6
Flam	10/16	62,5	28/41	68,3	0,9	0,6-1,4
Espaguetis	27/42	64,3	11/15	73,3	0,9	0,6-1,3
Peix	26/34	76,5	12/23	52,2	1,5	0,9-2,3
logurt	26/40	65,0	12/17	70,6	0,9	0,6-1,3
Aigua envasada	35/50	70,0	3/7	42,9	1,6	0,7-3,9
Aigua de l'ermita	22/34	64,7	16/23	66,0	0,9	0,6-1,3
Pràctica de <i>råfting</i>	36/53	67,9	2/4	50,0	1,4	0,6-3,7
Aigua de la xarxa	37/56	66,1	1/1	100,0	0,7	0,5-0,8

RR^a: risc relatiu; IC^a: interval de confiança.

com de qualsevol lesió cutània. Els frotis rectals poden ser útils atès que *S. aureus* també pot procedir de l'anús o el perineu. La mostra s'introduirà en una solució conservant estèril o en el medi de transport recomanat pel laboratori. En el cas de brots per salmonel·la, shigel·la i altres patògens entèrics, s'han de prendre mostres de femta (com en els malalts), i transportar-les i processar-les adequadament, segons es descriu a la taula 26.

Cal tenir en compte que si es descobreix el mateix microorganisme a la femta d'un manipulador i en un aliment no es pot afirmar rotundament que el treballador sigui la font d'infecció, atès que ell també podria haver-se contaminat i ser un dels casos. S'hauria de recollir informació en relació amb l'absentisme laboral del treballador i possibles infeccions gastrointestinals, o de la pell, especialment els dies abans de la preparació de l'aliment sospitós.^{6,24-26}

8.5 Anàlisi epidemiològica de les dades obtingudes

L'anàlisi està condicionada per la hipòtesi que s'ha d'avaluar, i com a regla general sempre cal anar de la més simple (anàlisi univariant) a la més com-

plexa (anàlisi bivariant i multivariant). La informació que s'ha obtingut a partir dels qüestionaris esmentats a l'apartat 8.4.3 permet elaborar la corba temporal epidèmica i estimar l'associació entre els diversos aliments consumits i la malaltia, aspectes que tenen una importància particular per extreure conclusions de la investigació del brot.^{7,8,14}

8.5.1 Corba temporal epidèmica

La corba temporal epidèmica es construeix sobre uns eixos de coordenades. A l'eix d'abscisses s'assenyala el temps en hores que ha transcorregut des del moment de la ingesta (valor 0) fins a l'aparició dels símptomes. A l'eix d'ordenades s'assenyala el nombre de casos en cada interval de temps (figura 5). La representació que s'obté mostrarà un tipus de corba típica de les epidèmies per vehicle comú i font única en el qual el 90 % dels casos o més se situen entre el període d'incubació mínim i el màxim teòric de la malaltia que se sospita, i per tant en aquest interval també estaria compresa la mediana del període d'incubació. El fet que alguns pacients presentin períodes d'incubació superiors al màxim teòric fa pensar en l'aparició de casos secundaris per transmissió de persona a persona o pel consum reiterat de l'aliment.

8.5.2 Estudi de l'associació entre els aliments consumits i la malaltia

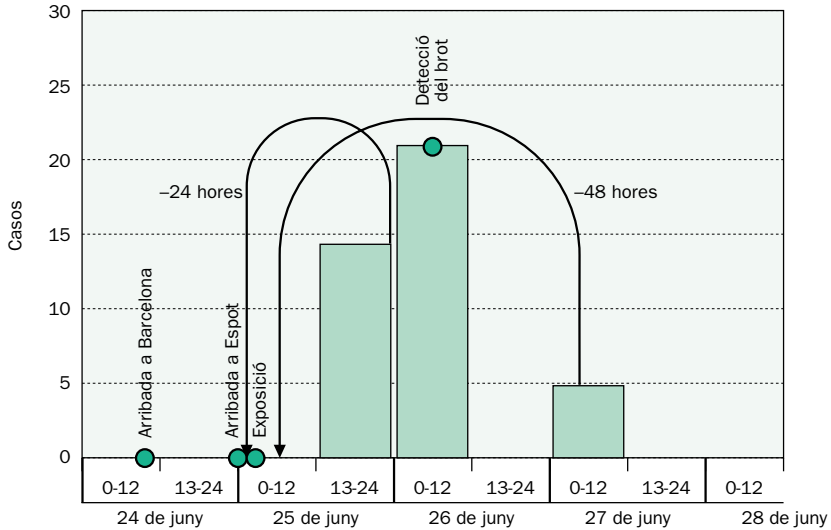
Com s'ha plantejat anteriorment, hi ha dos dissenys epidemiològics possibles per estudiar les toxiinfeccions alimentàries.

Si es fa un estudi de cohorts retrospectives es pot estimar la incidència amb la qual ha aparegut la malaltia en cadascuna de les cohorts. La cohort exposada la formen els que han menjat un aliment determinat i la cohort no exposada els que no n'han menjat. Un cop es coneix el nombre de malalts i no malalts a cada cohort, les dades s'introdueixen en una taula de 2 x 2 com la que es mostra a la figura 6. La proporció $a/a+b$ és la incidència de la malaltia en les persones exposades (I_e), mentre que la proporció $c/c+d$ és la incidència de la malaltia en les no exposades (I_o).

Si en les exposades a un aliment la incidència de la malaltia és més alta que en les no exposades, cal pensar que hi ha associació entre l'aliment en qüestió i la malaltia. La mesura que relaciona aquestes dues incidències és el risc relatiu (RR) $RR = I_e/I_o$. Un exemple pràctic d'aquest càlcul es pot observar a la taula 26, que recull els resultats d'una toxiinfecció alimentària per *Norovirus* esdevinguda a Espot (Lleida).

Però amb aquesta mesura no n'hi ha prou per conèixer si des del punt de vista epidemiològic hi ha associació o no entre el consum d'un determinat aliment i l'aparició de la malaltia, ja que podria ser que la distribució dels casos entre les persones exposades i les no exposades l'expliqués l'atzar. Per descartar aquesta possibilitat cal calcular l'interval de confiança del risc

Figura 5. Corba epidèmica en un brot de gastroenteritis per *Norovirus*



Font: Godoy P, Izcarra J, Bartolomé R, Bach P, Escobar A, Pal M, et al. Toxiinfección alimentaria por *Norovirus* debida al consumo de bocadillos. Med Clin (Barc) 2005; 124: 161-164.

Figura 6. Anàlisi d'una taula de 2 x 2 en un estudi de cohorts retrospectives

	Persones malaltes	Persones no malaltes
Persones exposades (Consumidors)	A	B
Persones no exposades (No consumidors)	C	D

Incidència en els persones exposades $le = A/A+B$
 Incidència en les persones no exposades $lo = C/C+D$
 Risc relatiu (RR) = $le/lo = (A/A+B)/C/C+D$

relatiu i constatar que el límit inferior és superior a 1, o fer una prova de significació estadística (chi quadrat), que ens indicarà amb quina probabilitat (p) la distribució la pot explicar l'atzar.^{8,14} S'acostuma a acceptar que probabilitats inferiors a 0,05 descarten l'explicació de l'atzar en l'associació trobada.

Aquell aliment amb el risc relatiu més alt (un cop descartada la probabilitat que l'atzar expliqui la distribució de freqüències) és la causa de la toxiinfecció des del punt de vista epidemiològic.

Amb aquest disseny de cohorts retrospectives es pot calcular, a més de la mesura d'associació referida, una mesura d'impacte que és el risc atribuïble (RA), que s'obté: $RA = I_e - I_o$. El risc atribuïble expressa la proporció de persones malaltes que pot explicar el consum de cada aliment.^{7,8} Lògicament, aquell aliment que tingui el risc atribuïble més elevat és el que s'ha de considerar més relacionat amb la toxiinfecció.

Quan el disseny és el d'un estudi de casos i controls no es poden comparar incidències, ja que es parteix de persones malaltes i no malaltes. Llavors el que es determina en cadascun d'aquests col·lectius és la freqüència d'exposició (consum d'un aliment determinat). En aquesta situació la mesura d'associació que s'ha d'utilitzar és l'*odds ratio* (OR).^{7,8,18,19} Aquesta és una mesura que té una interpretació equivalent al risc relatiu i que s'obté així: $OR = a \cdot d / b \cdot c$.

Com més alt sigui el valor de l'OR, més forta serà l'associació entre l'exposició i la malaltia. Aquell aliment que tingui una OR més elevada és el que, des del punt de vista de l'anàlisi epidemiològica, s'ha de considerar la causa de la toxiinfecció, sempre que s'hagi descartat, tal com passava en els estudis de cohorts, la probabilitat que l'atzar expliqui la distribució de freqüències observades.^{18,19}

Quan es troben valors d'OR o de RR alts en més d'un aliment, cal pensar en dues explicacions possibles. Una seria que realment hi hagi dos aliments contaminats. L'altra seria que en analitzar les dades s'estigui produint un biaix de confusió, és a dir, que el consum d'un aliment que realment no està associat a la toxiinfecció es distribueixi de manera desigual (semblant entre els grups de persones exposades i no exposades a la distribució de l'aliment que està realment associat a la malaltia) entre els grups de persones exposades i no exposades a un altre aliment, que és el que realment està associat a la malaltia.

Llevat que es tinguin resultats del laboratori que mostrin que els dos aliments en qüestió estan contaminats, per conèixer quina de les dues explicacions és la més correcta cal fer servir tècniques d'anàlisi epidemiològica específiques, com l'anàlisi estratificada de Mantel-Haenszel o la regressió logística. Sense entrar en la metodologia d'aquestes tècniques, cal assenyalar que amb aquests mètodes el que s'aconsegueix és eliminar el biaix de confusió i conèixer quin és l'aliment que realment està associat a la toxiinfecció.¹⁸

8.6 Conclusions i elaboració de l'informe

Un cop realitzada l'anàlisi epidemiològica, bé sigui amb dissenys de cohorts retrospectives o amb disseny d'estudi de casos i controls, ja es pot conèixer l'aliment que es podria considerar causa de la toxiinfecció. Però la investigació de qualsevol brot epidèmic és més àmplia que l'anàlisi epidemiològica referida a l'apartat 8.5. Per arribar a extreure unes conclusions adequades sobre l'etiologia (agent causal) i el vehicle de transmissió (aliment o aliments implicats) s'han de tenir en compte, a més de l'RR o l'OR, els resultats de la clínica que han presentat la majoria de les persones afectades, els resultats del laboratori i les dades obtingudes sobre el procés de manipulació i les pràctiques dels manipuladors i manipuladores. Només si valorem de manera conjunta tots aquests aspectes obtindrem els fonaments per arribar a conèixer l'etiologia i els factors que contribueixen a un brot de toxiinfecció alimentària.²⁷⁻²⁹

Cap d'aquests factors per si sols permet extreure conclusions.²⁷ Fins i tot els resultats del laboratori, que en principi són d'una gran objectivitat, avaluats aïlladament poden portar a conclusions errònies sobre una toxiinfecció.²⁷⁻²⁸

Finalment, un cop s'han desenvolupat les diferents etapes de què consta la investigació del brot i s'ha arribat a unes conclusions sobre l'agent causal, l'aliment que l'ha vehiculat i els factors que han contribuït a l'aparició de la toxiinfecció, cal redactar un informe.

Aquest informe ha de reflectir adequadament tots els factors relacionats amb l'aparició del brot epidèmic, les investigacions realitzades i també les actuacions sanitàries que s'han dut a terme després de la sospita de les seva existència.⁷⁻⁸ S'han de detallar tots els aspectes que s'han planificat i aquelles actuacions que finalment s'han dut a terme, especificar les persones entrevistades, les mostres clíniques recollides i les investigacions pròpies de la higiene alimentària. També s'han de presentar els resultats de l'anàlisi epidemiològica i els resultats dels laboratoris, la conclusió final i les recomanacions efectuades per a la prevenció de nous casos.

A partir de l'avaluació conjunta dels informes dels diferents brots, es poden conèixer els agents causals, els aliments i els factors contribuents més freqüents a cada territori, la qual cosa és fonamental per orientar de manera correcta les actuacions preventives que siguin necessàries per disminuir la seva incidència.³⁰⁻³² A més, també s'ha de tenir en compte que, com a documents administratius que són, poden contribuir que les accions legals que es puguin derivar de denúncies judicials de toxiinfeccions alimentàries s'ajustin a les dades que d'acord amb la investigació seguida s'hagin pogut obtenir, ja que, encara que compten amb les limitacions pròpies de qual-

sevol estudi retrospectiu, aquestes dades són les que poden reflectir millor la realitat respecte a la seqüència de fets esdevinguda.

8.7 La comunicació amb les persones afectades i els mitjans de comunicació

En el decurs dels brots epidèmics, com en altres situacions de crisi que afecten la salut pública, és habitual que es generin conflictes i desconfiances envers les actuacions que es duen a terme. Una acusació freqüent és assenyalar que s'oculta informació o que prevalen interessos d'altres sectors (indústries o establiments), i que en definitiva els sanitaris i sanitàries no treballen en primer lloc per la salut pública o els interessos de la ciutadania. El contraargument habitual dels mateixos sanitaris i sanitàries és dir que en bona mesura els responsables ens són els mateixos mitjans de comunicació, perquè tenen l'objectiu de generar crisis fictícies que millorin les seves vendes; i, en definitiva, es crea una situació que posa de manifest una confrontació o conflicte on sovint la confiança en el sistema sanitari pot resultar afectada.^{8,33}

És cert que els mitjans de comunicació tenen una sensibilitat especial davant de certes situacions. Així, quan es pot responsabilitzar alguna institució o algun sanitari o sanitària o quan és evident que s'intenta ocultar dades o falsejar una situació es creen unes circumstàncies especialment atractives per als mitjans de comunicació. Tanmateix, s'ha de reconèixer que en general les històries no les creen els mitjans de comunicació, sinó que en tot cas les amplifiquen.⁸

L'objectiu de la comunicació en els brots epidèmics, i en situacions de crisi en general, és intentar que el risc i les preocupacions que perceben els pacients, els grups de persones afectades i els mitjans de comunicació s'acosti al màxim al documentat elaborat amb les dades dels estudis epidemiològics. Per això quan es fa comunicació en situacions de brots s'han de respectar tres principis:

- Acceptar que el que percep el públic i els pacients són també fets reals.
- Crear confiança i credibilitat en els sanitaris i sanitàries que duen a terme els estudis.
- Reconèixer que la comunicació és una habilitat que requereix coneixements, preparació i pràctica.

En aquesta línia s'ha de intentar: incorporar a la comunicació tots els possibles interlocutors (pacients, col·lectius, establiments, indústria i administració); donar resposta, en un context mútuament respectuós, a tots els requeriments d'informació; informar de forma clara, oberta i sincera sobre

el que “es coneix” i el que “no es coneix”, i intentar que totes les recomanacions i informacions les dugui a terme un interlocutor únic.³³

Hem d'acceptar l'aspiració social de rebre respostes adequades i informades en situacions que afecten la salut de la comunitat. Abordar adequadament aquesta aspiració és qüestió de voluntat i formació.

Bibliografia

1. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Guia per a la Prevenció i el control de les toxiinfeccions alimentàries. 1a ed. Quaderns de Salut Pública núm. 5. Barcelona: Direcció General de Salut Pública, 1992.
2. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Protocol de prevenció i control de brots de toxiinfecció alimentària. Documents de Vigilància Epidemiològica núm. 1. 1a ed. Barcelona: Direcció General de Salut Pública, 2000. Disponible a: <www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/spsatia.pdf> [consultat: 8 d'agost de 2005]
3. Jones TF, Schaffner W. New perspectives on the persistent scourge of food-borne disease. *J Infect Dis* 2005; 191: 1029-1031.
4. Hoffman RE, Greenblatt J, Matyas BT, Sharp DJ, Esteban E, Hodge K, et al. Capacity of state and territorial health agencies to prevent foodborne illness. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 11-16.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne-disease Outbreaks—United States, 1993-1997. *MMWR Surveill Summ* 2000; 49 (SS1): 1-51. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss4901a1.htm> [consultat: 9 d'agost de 2005]
6. World Health Organization (WHO). Guidelines for Organization and Management of Surveillance of Foodborne Diseases. Ref VPH/82.39. Ginebra, 1982. Disponible a: http://whqlibdoc.who.int/hq/pre-wholis/VPH_82.39.pdf [consultat: 9 d'agost de 2005]
7. Bres P. Medidas de salud pública en emergencias causadas por epidemias: guía práctica. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1987.
8. Gregg MB, Dicker RC, Goodman RA, editors. *Field Epidemiology*. 2a ed. Nova York: Oxford University Press, 2002.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Diagnosis and Management of Foodborne Illnesses: a Primer of Physicians. *MMWR Recomm Rep* 2001; 50 (RR2): 1-69. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5002a1.htm> [consultat: 9 d'agost de 2005]
10. Adak GK, Meakins SM, Yip H, Lopman BA, O'Brien SJ. Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 365-372.
11. Gallimore CI, Pipkin C, Shrimpton H, Green AD, Pickford Y, McCartney C, et al. Detection of multiple enteric virus strains within a foodborne outbreak of gastroenteritis: an indication of the source of contamination. *Epidemiol Infect* 2005; 133: 41-47.
12. Jones TF, Bulens SN, Gettner S, Garman RL, Vugia DJ, Blythe D, et al. Use of stool collection kits delivered to patients can improve confirmation of etiology in foodborne disease outbreaks. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1454-1459.
13. Godoy P, Prat A, Alseda M, Torres J, Domínguez A, Salleras L. Toxiinfecció alimentària por virus Norwalk-like viruses genogrupu II. *Med Clin (Barc)* 2002; 119: 13-15.

14. Salleras L, Canela J, Domínguez A, Garrido P, Albiol E, Tresserras A, et al. Investigación epidemiológica en un brote de toxiinfección alimentaria por *Salmonella* ocurrido en una población geriátrica. *Med Clin (Barc)* 1988; 91: 609-613.
15. Fiore AE. Hepatitis A transmitted by food. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 705-715.
16. Abgueguen P, Delbos V, Chennebault JM, Fanello S, Brenet O, Alquier P, et al. Nine cases of foodborne botulism type B in France and literature review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22: 749-752.
17. Godoy P, Izcara J, Bartolomé R, Bach P, Escobar A, Pal M, et al. Toxiinfección alimentaria por *Norovirus* debida al consumo de bocadillos. *Med Clin (Barc)* 2005; 124: 161-164.
18. Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. *Epidemiologic Research: Principles and Quantitative methods*. Belmont: Lifetime Learning Publications, 1982.
19. Schlesselman JJ. *Case-Control Studies: Design, Conduct, Analysis*. Nova York: Oxford University Press, 1982.
20. Hennessy TW, Cheng LH, Kassenborg H, Ahuja SD, Mohle-Boetani J, Marcus R, et al.; Emerging Infections Program FoodNet Working Group. Egg consumption is the principal risk factor for sporadic *Salmonella* serotype Heidelberg infections: a case-control study in FoodNet sites. *Clin Infect Dis* 2004; 38 (supl. 3): S237-243.
21. Staes CJ, Schlenker TL, Risk I, Cannon KG, Harris H, Pavia AT, et al. Sources of infection among persons with acute hepatitis A and no identified risk factors during a sustained community-wide outbreak. *Pediatrics* 2000; 106: E54.
22. Hutin YJ, Pool V, Cramer EH, Nainan OV, Weth J, Williams IT, et al. A multistate, foodborne outbreak of hepatitis A. National Hepatitis A Investigation Team. *N Engl J Med* 1999; 340: 595-602.
23. Peterson LR, Hamilton JD, Baron EJ, Tompkins LS, Miller JM, Wilfert CM, et al. Role of clinical microbiology laboratories in the management and control of infectious diseases and the delivery of health care. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 605-611.
24. Bryan FL, Anderson HW, Cook OD, Guzewich J, Lewis KH, Swanson RC, et al., editors. *Procedures to Investigate Foodborne Illness*. Ames: International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians, 1987.
25. Jones TF, Pavlin BI, LaFleur BJ, Ingram LA, Schaffner W. Restaurant inspection scores and foodborne disease. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 688-692.
26. Giorgi Rossi P, Faustini A, Perucci CA; Regional Foodborne Disease Surveillance Group. Validation of guidelines for investigating foodborne disease outbreaks: the experience of the Lazio region, Italy. *J Food Prot* 2003; 66: 2343-2348.
27. Van Duynhoven YT, de Jager CM, Kortbeek LM, Vennema H, Koopmans MP, van Leusden F, et al.; A one-year intensified study of outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *Epidemiol Infect* 2005; 133: 9-21.
28. Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW. Two epidemiologic patterns of *Norovirus* outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 71-77.

29. Long SM, Adak GK, O'Brien SJ, Gillespie IA. General outbreaks of infectious intestinal disease linked with salad vegetables and fruit, England and Wales, 1992-2000. *Commun Dis Public Health* 2002; 5: 101-105.
30. Widdowson MA, Sulka A, Bulens SN, Beard RS, Chaves SS, Hammond R, et al. *Norovirus* and foodborne disease, United States, 1991-2000. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 95-102.
31. Rooney RM, Cramer EH, Mantha S, Nichols G, Bartram JK, Farber JM, et al. A review of outbreaks of foodborne disease associated with passenger ships: evidence for risk management. *Public Health Rep* 2004; 119: 427-434.
32. Osterholm MT. Foodborne disease: the more things change, the more they stay the same. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 8-10.
33. Bennett P. Understanding responses to risk: some basic findings. A: Bennett P, Calman K, editors. *Risk Communication and Public Health*. Nova York: Oxford University Press, 1999: 3-19.

9. Anàlisi microbiològica de les toxiinfeccions

9.1 Tècniques tradicionals *versus* tècniques moleculars

L'estudi microbiològic de les malalties transmeses per aliments té diverses perspectives. Una fa referència al diagnòstic etiològic; una altra, a la investigació de la font del microorganisme patògen entre els aliments sospitosos o l'aigua; una altra, a la detecció del reservori, inclosos els portadors (manipuladors d'aliments i d'altres), i finalment, al control regular dels aliments per part de la indústria.

El diagnòstic etiològic de les infeccions requereix una presa de les mostres clíniques adequades, i la confirmació de la font requereix obtenir una mostra dels aliments sospitosos o involucrats. El control regular dels aliments elaborats per la indústria, més que en l'estudi del producte acabat, es basa fonamentalment en l'anàlisi de perills i punts de control crític (APPCC) del procés de producció.

El diagnòstic de les infeccions de l'ésser humà —incloses les toxiinfeccions alimentàries— que s'expressen generalment com a gastroenteritis, es basa en l'aplicació de les tècniques estandarditzades en microbiologia clínica. En les enteritis, la femta és la mostra adequada per a l'estudi, encara que de vegades pot estar indicat prendre, a més, mostres del vòmit o de la sang per cultiu o per detecció de toxines. En algun cas l'aliment involucrat pot ser la millor mostra per al diagnòstic de la infecció humana, com passa en les toxiinfeccions estafilocòcciques, per *Clostridium* o *Bacillus*.

És molt important obtenir mostres dels aliments sospitosos per a l'estudi microbiològic, però assolir aquest objectiu acostuma a ser molt difícil.

Els estudis microbiològics, tant per al diagnòstic en l'ésser humà com per a la detecció de patògens als aliments, encara es fan majoritàriament mitjançant tècniques tradicionals basades en el cultiu. En aquest context clàssic, cal assenyalar que els medis d'aïllament cromogènics i les galeries miniaturitzades per a la identificació automatitzada i/o ràpida dels microorganismes (de les quals hi ha diverses al comerç) són dos elements àmpliament introduïts.

Els últims anys s'han utilitzat progressivament diverses tècniques de diagnòstic anomenades col·lectivament de “diagnòstic ràpid”. Són tècniques de detecció d'antigen i tècniques genètiques.¹

Les primeres es basen en la detecció d'un antigen estructural del microorganisme o d'una toxina, que habitualment és una proteïna antigènica. Aquests antigens han de ser específics del microorganisme cercat, i es

detecten mitjançant anticossos marcats amb substàncies enzimàtiques, fluorescents, lumíniques o d'altres. La unió dels anticossos als antígens microbians presents a la mostra es detecta mitjançant el senyal fluorescent o lumínic emès.

Les tècniques genètiques es basen en la detecció d'un fragment de DNA o RNA específic del microorganisme investigat mitjançant una sonda (*probe*), que és un fragment de DNA marcat amb una substància fluorescent o lumínica. La sonda té una seqüència de bases complementària d'una seqüència específica del microbi buscat. Per tant, quan el microbi és present la sonda s'unirà (hibridarà) a la seqüència complementària del microorganisme, i emetrà el senyal propi del marcador utilitzat.

Les sondes utilitzades directament per detectar els microorganismes a les mostres clíniques o als aliments tenen poca sensibilitat, per la qual cosa el fragment que cal detectar s'amplifica prèviament mitjançant una tècnica com la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) o d'altres. Aleshores la sonda troba fàcilment el seu fragment complementari específic, del qual s'ha fet un gran nombre de còpies.²

Les proves microbiològiques estan sotmeses a regulacions de qualitat i normatives legals, en particular les utilitzades per a l'estudi dels aliments (taula 25).

Actualment som en un moment de transició quant a la introducció de tècniques ràpides per al diagnòstic. A continuació indiquem alguns dels aspectes que han limitat o impulsat el seu ús.

Els microorganismes, inclosos els patògens, no estan distribuïts homogèniament als aliments. La distribució heterogènia dels microbis pot requerir l'homogeneïtzació i el processament de volums importants d'aliment per incrementar la sensibilitat; aquests objectius s'aconsegueixen amb tècniques convencionals. Els aliments, però, poden incloure substàncies bacteriostàtiques com greixos, preservatius i altres compostos que inhibeixen la multiplicació bacteriana als cultius, i aquestes substàncies també poden actuar com a inhibidores de les tècniques d'amplificació genètica.

Els microorganismes patògens poden estar alterats (estressats), i els aliments poden tenir un gran nombre de microorganismes innocus. Ambdós factors dificulten la detecció dels patògens. Els microorganismes estressats requereixen tècniques de cultiu de preenriquiment en medis rics, ja que aquests microbis són sensibles a l'acció de les substàncies inhibidores dels medis selectius; tanmateix, els medis selectius són imprescindible quan la flora acompanyant és abundant. La detecció d'antigen o d'un fragment d'àcid nucleic (hibridació, PCR) no permet conèixer si el microbi és viable, estressat o mort, fet que dificulta prendre decisions sobre el lliurament d'aquests productes al comerç.

D'altra banda, hi ha microorganismes viables que són difícils o impossibles de detectar per tècniques convencionals, com els virus enteropatogènics o les soques virulentes d'espècies comensals, com *Escherichia coli* enteropatogènica. En aquests casos les tècniques immunològiques o genètiques són fonamentals i permeten l'estudi sistemàtic de microorganismes com norovirus, astrovirus, *E. coli* enterohemorràgica i d'altres.

Tots aquests factors poden influir en l'eficàcia i la idoneïtat d'un mètode o un altre. Un factor molt important a la indústria és el punt de vista econòmic, que demana tècniques ràpides i específiques per al control dels aliments fabricats abans del seu lliurament. Cal assenyalar, però que algunes tècniques ràpides requereixen un enriquiment previ, per la qual cosa el seu caràcter "ràpid" s'ha de matisar.

D'altra banda, la qualificació dels aliments com a mancats de patògens (patògens "absents") fa referència a les tècniques estàndard que estudien 25 g d'aliment, però es desconeix quin significat poden tenir per a la salut altres valors quantitius obtinguts amb altres tècniques.

Hi ha diverses proves comercialitzades per al diagnòstic ràpid de les infeccions vehiculades per aliments.² Les tècniques basades en biosensors i xips (*array*) constituïran la propera generació de tècniques ràpides.^{1,2}

9.2 Diagnòstic etiològic dels pacients

9.2.1 Plantejament global de l'estudi

Encara que les enteritis esporàdiques són objecte d'aquest text, cal assenyalar que, com en el cas dels brots, els microorganismes involucrats s'han d'estudiar d'una manera seqüencial atès el gran nombre d'agents causals d'aquests processos.

La gran majoria d'enteritis esporàdiques estan produïdes al nostre medi per salmonel·les, campilobacteris, giàrdies i rotavirus, per tant aquests microorganismes s'han d'investigar sempre. L'associació de l'aparició de l'enteritis amb el consum d'algun aliment específic, que en els casos esporàdics sempre és molt difícil, pot promoure la investigació inicial d'algun microorganisme infreqüent, com per exemple els vibrions després de menjar marisc cru.

En la diarrea del viatger cal investigar els quatre microorganismes assenyalats perquè són de distribució universal, així com les shigel·les, *E. coli* enteropatogènica, vibrions i amebes entre d'altres. En els malalts que prenen antibiòtics o antiàcids cal estudiar *Clostridium difficile*.^{3,4}

En els brots de toxiinfeccions la prioritització de l'estudi etiològic s'ha de fer basant-se en diferents elements que orienten vers l'etiologia del brot. En primer lloc el període d'incubació i el quadre clínic, dades que es recullen

a les taules 2 i 3. En segon lloc cal tenir en compte els possibles aliments associats, ja que alguns vehiculen de manera relativament específica determinats microorganismes, com és el cas dels pastissos i l'estafilococ, segons s'assenyala de manera orientativa a la taula 23.

Al nostre medi els norovirus, les salmonel·les i els bacteris toxigènics, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* i *Bacillus cereus*, són els agents causals més freqüents de brots de toxiinfeccions alimentàries.

En els brots vehiculats per aigua de consum els agents etiològics són una mica diferents, i es descarten criptosporidis, giàrdies i shigel·les.

9.2.2 Recollida i transport de les mostres

La mostra més emprada per a l'estudi microbiològic de les toxiinfeccions alimentàries és la femta, encara que en alguns casos pot caldre el cultiu d'altres mostres com els vòmits. Es recomana obtenir un volum de femta de 5 a 10 ml si és líquida, o de 4 a 5 grams (mida d'una nou) si és pasta o sòlida. La femta s'ha d'introduir amb l'ajuda d'una espàtula en un recipient amb tancament hermètic i sense conservants (flascó net convencional o flascons amb una cullereta, dissenyats per a aquest fi) (taula 27).

La femta, una vegada recollida, s'ha de remetre ràpidament al laboratori per al processament immediat. Si no fos possible processar-la en un temps inferior a dues hores es dividirà en tres parts, una part de la femta es posarà en un flascó amb el medi de transport de Cary-Blair per a l'estudi bacteriològic; una altra part, en un flascó amb fixador com el mertiolat-iode-formol (MIF) per a l'estudi parasitològic, i una tercera part en un recipient sense conservants que es mantindrà refrigerada a la nevera durant 24 hores per a l'estudi de virus i toxines bacterianes; si l'estudi es retarda més d'aquest temps, aquesta darrera mostra caldrà congelar-la a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Si la femta no es pot processar en un temps inferior a dues hores i no es disposa de flascons amb medi de transport, es guardarà refrigerada un màxim de 24 hores per evitar la dessecació i la proliferació dels bacteris comensals, i caldrà assumir el risc de la possible disminució del rendiment de les proves.

No és recomanable obtenir la femta mitjançant escovillonat rectal; malgrat això, si es fa, s'ha de mantenir en medi de transport: el medi de Cary-Blair és el més indicat per a l'estudi bacteriològic.⁵⁷

9.2.3 Estudi bacteriològic

Una vegada definits els pacients que cal analitzar, i abans de posar en marxa l'estudi, s'han de conèixer les dades clíniques i epidemiològiques que permeten establir una hipòtesi etiològica per tal de prioritzar els microorganismes que s'hauran d'investigar.

Taula 27. Transport de les mostres de femta per al diagnòstic microbiològic de les toxiinfeccions alimentàries

Mètode universal: bacteriologia, parasitologia i virologia

Volum de la femta: 5-15 ml si és líquida, o 4-5 grams si és sòlida (mida d'una nou).

Recipient: flascó de plàstic o vidre, net, amb tanca hermètica i sense medi de transport. No es recomana fer servir escovillons.

Transport: ràpid. Conservació a temperatura ambient fins a dues hores des de l'emissió.

Mètodes particulars

Si no es pot transportar la mostra amb rapidesa al laboratori o només es pretén fer una anàlisi concreta:

Anàlisi bacteriològica

Volum de la femta: 2-5 ml si és líquida, o 1-2 grams si és sòlida

Recipient: flascó amb medi de transport Cary-Blair. Agitar per barrejar la femta amb el medi de transport.

No es recomana fer servir escovillons. La presa d'una mostra amb escovilló només és acceptable quan és absolutament impossible recollir la mostra per un altre mètode i amb finalitats específiques (investigació de portadors, etc.)

Conservació: a temperatura ambient, màxim 24 hores (si està en medi de transport)

Anàlisi parasitològica

Volum de la femta: 2-5 ml si és líquida, o 1-2 grams si és sòlida

Recipient: flascó amb fixador: solució MIF

Flascó amb formol al 10% per a l'estudi de *Cryptosporidium*

Conservació: a temperatura ambient, durant un temps indefinit

Anàlisi virològica i/o de toxines bacterianes

Volum de la femta: 2-5 ml si és líquida, o 1-2 grams si és sòlida

Recipient: flascó sense medi de transport

Conservació: a la nevera, màxim 24 hores, i després congelar-la a -70°C . Refrigeració a $4-6^{\circ}\text{C}$

El diagnòstic bacteriològic de les toxiinfeccions alimentàries es du a terme fonamentalment mitjançant el cultiu de la femta dels malalts, en medis selectius adients per a l'aïllament dels bacteris causants de la toxiinfecció.

Examen directe

L'examen directe mitjançant la tinció de Gram no és útil des del punt de vista del diagnòstic per a les enteritis, llevat de les produïdes per campilobacteris i vibrions, la morfologia corbada característica dels quals permet fer un diagnòstic presumptiu. És important recordar que quan es fa servir la safranina com a colorant de contrast en la tinció de Gram és difícil visualitzar campilobacteris; per tant, és recomanable emprar la fucsina.

Cultiu

El coprocultiu bàsic ha d'incloure inicialment la investigació de *Salmonella* i *Campylobacter*; els altres bacteris s'investigaran seqüencialment segons sospita.⁵

El cultiu de la femta mitjançant l'aïllament de bacteris enteropatògens es fonamenta en la utilització de medis de cultiu selectius-diferencials i d'enriquiment que permeten detectar i aïllar de manera senzilla els patògens entre l'abundant flora acompanyant que hi ha al tub digestiu. Hi ha un gran nombre de medis selectius i, segons el microorganisme de què se sospiti i la tradició de cada laboratori, s'inclouran en el coprocultiu els més adients.

Per a les salmonel·les, els més emprats, encara que amb variacions entre els diferents laboratoris, són medis amb grau de selectivitat variable que a la vegada són diferencials, com l'agar de MacConkey, que permet diferenciar les colònies que no fermenten la lactosa, com les de salmonel·la, shigel·la i yersínia, mitjançant l'aparició de colònies incolores o transparents; l'agar salmonel·la-shigel·la (SS), a més de diferenciar com l'anterior les colònies lactosa negatives, permet detectar les espècies productores de SH₂ com les salmonel·les, per la formació d'un precipitat negre al centre de la colònia. Aquest medi és força selectiu per als bacteris enteropatògens ja que inhibeix la flora coliforme.

Altres medis selectius diferencials utilitzats són el de xilosa, lisina, i desoxicolat (XLD) i l'agar d'Hectoen (H), que també permeten diferenciar les soques de salmonel·la i shigel·la per les colònies característiques que formen. El medi de MacConkey no es inhibidor per als enterobacteris, per la qual cosa és el medi adequat per a l'aïllament d'*E. coli* i algunes shigel·les particularment làbils. D'altra banda, s'han dissenyat medis cromogènics com l'agar de Rambach i CHROMagar *Salmonella*, utilitzats per a la detecció i la identificació presumptiva de les salmonel·les en mostres clíniques i alimentàries.⁶⁻⁸

Els campilobacteris presenten característiques diferencials de la resta d'enteropatògens.⁹ Són bacils gramnegatius amb una morfologia corbada o espiril·lar, la majoria dels quals requereixen condicions microaeròfiles (5 % d'O₂, 10 % de CO₂, 85 % de N₂) per a un creixement òptim. Les espècies que causen enteritis més sovint són les espècies termofíliques amb una temperatura òptima de creixement de 42 °C. Aquestes característiques es fan servir per facilitar-ne la detecció.

Entre els medis de cultiu selectius per a campilobàcters hi ha els medis sense sang, com el CCDA (agar de carbó i desoxicolat amb cefoperazona), i els que contenen sang, com l'agar de Skirrow, l'agar de Preston, l'agar de Campyloset i l'agar de Campy-CVA, entre d'altres.^{2,8} La diferent capacitat selectiva dels medis per a l'aïllament dels campilobàcters termofílics

és deguda a l'addició de diversos antimicrobians, els quals poden inhibir el creixement d'algunes soques de *C. jejuni* i *C. coli* i d'altres espècies com *C. fetus*, *C. hyointestinalis* i *C. upsaliensis*, que hi poden ser presents. Per aquest fet, és convenient incorporar en el coprocultiu almenys dos medis selectius diferents per a aquest microorganisme.

La tècnica de filtració sobre medis de cultiu, que aprofita la capacitat que té *Campylobacter* per travessar els filtres de membrana (0,45 - 0,65 µm), és un mètode senzill suggerit per incrementar la recuperació del bacteri de les mostres fecals. La filtració es fa directament sobre un medi de cultiu selectiu o bé no selectiu, com el agar sang. Per això, es posa un filtre amb porus de 0,65 µm sobre una placa amb el medi i es dipositen de 10 a 15 gotes de la suspensió de la femta. Després d'una hora es retira el filtre i s'incuba la placa en atmosfera microaeròfila i a la temperatura més adient per a l'aïllament del campilobacteri buscat. Aquesta tècnica, menys sensible que la sembra directa, només s'ha d'utilitzar com a sistema complementari de la sembra directa en medis selectius.⁹⁻¹⁰

Els medis s'incubaran en atmosfera microaeròfila i a una temperatura de 42 °C durant 48-72 hores. Si els cultius són negatius per a campilobacteris i no s'aïllen d'altres patògens, es recomana sembrar una mostra addicional en medis selectius i fer la incubació a 37 °C en atmosfera microaeròfila per descartar la presència d'espècies no termofíliques.

Com s'ha assenyalat anteriorment, en fer aquest coprocultiu bàsic, a més d'aïllar les salmonel·les, en els mateixos medis es poden aïllar altres enteropatògens com les shigel·les, les yersínies i *E. coli*.

Quan hi ha la sospita epidemiològica d'una enteritis causada per *E. coli* O157:H7 (*E. coli* enterohemorràgica) o quan el pacient presenta una diarrea sanguinolenta, particularment si és afebril, s'incorporaran al coprocultiu medis selectius per a aquest serotip. La diferenciació d'*E. coli* O157:H7 en el cultiu és fàcil pel fet que la majoria de les soques d'aquest serotip, a diferència de la resta de soques d'*E. coli*, no fermenten el sorbitol i són β-D-glucuronidasa negatives.¹¹⁻¹³

La incapacitat d'*E. coli* O157:H7 per fermentar el sorbitol ha permès dissenyar medis diferencials com són l'agar de MacConkey amb sorbitol (MACS); les soques d'aquest serotip hi creixen i donen lloc a colònies transparents.¹⁴ S'han fet diferents modificacions en aquest medi mitjançant l'addició de diverses substàncies selectives que incrementen l'especificitat per a *E. coli* O157:H7, i així s'han dissenyat medis com l'agar MacConkey amb sorbitol, tel·lurit i cefixima (MAC-S-CT), que a més presenta una gran selectivitat i inhibeix el creixement de la gran majoria de bacils gramnegatius incloent-hi els serotips d'*E. coli* no O157:H7,¹⁵ o l'agar MacConkey amb sorbitol, ramnosa i cefixima (MAC-S-CR), amb més poder diferencial.

S'han dissenyat medis selectius cromogènics, com el CHROMagar O157 entre d'altres, que permeten detectar aquestes soques aprofitant la incapacitat de produir β -D-glucuronidasa. La resta de serotips verotoxigènics d'*E. coli* no presenten característiques diferencials, per la qual cosa és difícil la detecció fenotípica.¹³

L'agar de cefsulodina, irgasan i novobiocina (CIN) és un medi selectiu per a les yersínies, encara que hi poden créixer altres enterobacteris, com els citrobàcters. Les yersínies creixen donant lloc a colònies transparents amb un centre vermell, molt característiques. La temperatura d'incubació serà de 30 °C durant 48 hores.

Les aeromones, encara que poden créixer en medis com el d'agar Mac-Conkey o el CIN, per aïllar-les es fan servir medis selectius com l'agar sang amb ampicil·lina.

Per aïllar els vibrions es fa servir l'agar de tiosulfat, citrat amb sals biliars i sacarosa (TCBS), un medi molt selectiu, per la concentració elevada de sal i tiosulfat sòdic, que inhibeix el creixement de la majoria d'enterobacteris, i diferencial per la presència de sacarosa, que permet distingir les espècies fermentadores —com *Vibrio cholerae*, que forma colònies grogues—, d'altres espècies no fermentadores que creixen formant colònies verdoses. El CHROMagar-vibrio és un medi cromogènic i selectiu que permet diferenciar *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* i *V. vulnificus* de la resta d'espècies.

Listeria monocytogenes ha emergit els darreres anys com un patògen important vehiculat per aliments contaminats. Encara que la listeriosi sistèmica és la presentació més comuna d'infecció humana, també pot produir gastroenteritis a causa del consum d'aliments.¹⁶⁻¹⁹ Quan se sospita que està implicada en un brot, a més d'estudiar els possibles aliments implicats s'ha de cercar a la femta dels pacients. Els medis selectius i diferencials (a través de la hidròlisi de l'esculina) són l'agar PALCAM (polimixina, acriflavina, liti, ceftazidima, esculina i manitol), l'agar d'Oxford modificat (esculina, liti i moxalactam) i l'agar LPM (liti, feniletanol i moxalactam), que és molt selectiu però no diferencial. També hi ha medis cromogènics com el CHROMagar *Listeria*.⁸

Les tècniques d'enriquiment són útils i poden incrementar l'aïllament quan la femta té un nombre escàs de microorganismes. Hi ha diversos medis d'enriquiment per als diferents enteropatògens, com ara el brou de selenit F, dissenyat per a l'enriquiment de les salmonel·les; el selenit inhibeix el creixement dels coliformes durant les primeres 8-12 hores d'incubació a 35 °C sense inhibir les salmonel·les. Per a *Campylobacter* s'han formulat medis entre els quals destaquem el Campy-tio i el medi de Preston. El brou usual incubat a 4 °C - 8 °C entre 1 i 4 setmanes s'utilitza per a l'enriquiment.

ment de les yersínies. El brou UVM (Universitat de Vermont) amb acriflavina, esculina i àcid nalidíxic és un medi enriquit i selectiu que s'empra per enriquir *L. monocytogenes*. L'aigua peptonada alcalina (7-10 g/l de ClNa) a pH 8,4 incubada a 35 °C entre 6 i 8 hores s'empra per a vibrions i aeromonas, i diversos medis, com ara el GN de Hajna, de formulació semblant al MacConkey, per a *E. coli* enterohemorràgica. Després de la incubació a la temperatura indicada i durant el temps adient, aquests medis es resembraran en els respectius medis selectius sòlids descrits anteriorment.⁴⁻⁵

Una tècnica d'enriquiment descrita per incrementar la recuperació d'*E. coli* O157:H7 verotoxígena dels aliments i també utilitzada en mostra clínica és la de separació immunomagnètica, també anomenada d'immunocaptura; és un sistema de concentració que es desenvolupa prèviament al cultiu en medi sòlid.²⁰ Consisteix en l'ús de petites esferes paramagnètiques recobertes amb anticossos anti-O157 que s'incorporen al brou d'enriquiment en el qual s'ha sembrat la mostra de femta. Les partícules amb els anticossos i els bacteris fixats a elles es concentren al fons del tub per acció d'un camp magnètic; aquest sediment es resembra en medis selectius com l'agar MAC-S o l'agar MAC-S-CT.

Identificació dels bacteris enteropatògens

Les espècies de *Campylobacter* que estan associades amb més freqüència a toxiinfeccions alimentàries (*C. jejuni* i *C. coli*, i molt menys sovint *C. lari*) són espècies termofíliques, per la qual cosa els cultius s'han d'incubar a 42 °C. El creixement de bacteris en aquesta temperatura i la morfologia de les colònies en els medis de cultiu selectius ajudaran en la identificació presumptiva. La confirmació es farà mitjançant tinció de Gram, quan s'observi la morfologia característica, i també amb proves bioquímiques.

Les colònies poden tenir aspectes diferents segons el medi utilitzat, tot i que en general quan creixen en medis de preparació recent són molt característiques: colònies planes grisenques que creixen de forma irregular envaint l'agar, i que recorden, de vegades, gotes de mercuri. Quan el medi perd humitat la morfologia colonial pot canviar i els campilobàcteris poden créixer i donar lloc a colònies més petites, rodones, brillants i poc invasores.

L'aspecte microscòpic característic del bacteri tenyit pel mètode de Gram correspon al de bacils gramnegatius corbats o espiril·lars, encara que en cultius vells, després d'incubacions prolongades, es poden observar formes coccoides difícils d'identificar i de recuperar. La identificació de les espècies no és senzilla per la manca de diferències fenotípiques entre elles, però es realitza mitjançant un reduït nombre de proves, com ara l'oxidasa, la catalasa, la hidròlisi de l'hipurat sòdic i de l'indoxilacetat. El creixement a 25 °C i a 42 °C, així com l'estudi de la sensibilitat a la cefalotina i l'àcid nalidíxic ajuden a la identificació. En l'actualitat l'estudi de la sensibilitat a

l'àcid nalidíxic és poc útil per a la identificació, ja que durant els darrers anys pràcticament la totalitat de les soques termofíliques de *Campylobacter* han adquirit resistència a les quinolones.

S'han desenvolupat diverses proves immunològiques (làtex, EIA) que permeten confirmar la identificació pel que fa al gènere, i també sondes DNA que identifiquen les espècies termofíliques més freqüents. Les tècniques de PCR són una alternativa important als mètodes tradicionals d'identificació bioquímica. Hi ha PCR multiplex que detecten simultàniament gens propis de les espècies amb més rellevància clínica de *Campylobacter*, com el gen *hipO* (hippuricase) de *C. jejuni*, el *glyA* de *C. coli*, *C. lari* i *C. upsaliensis* i el *sapB 2* de *C. fetus* subespècie *fetus*.^{21,22} Aquestes tècniques són ràpides i tenen una gran especificitat

És imprescindible fer servir els diferents medis selectius i diferencials per a l'aïllament dels enterobacteris i vibrions enteropatògens de la femta. En aquests medis selectius, emperò, sempre creix, en més o menys quantitat, una barreja heterogènia de colònies diferents pertanyents a la flora comensal del tub digestiu. És necessari, doncs, després de la incubació, fer una observació acurada dels medis de cultiu i seleccionar aquelles colònies amb característiques compatibles amb una espècie enteropatògena i semblar-les en medis de cribratge per a la identificació presumptiva, com l'agar de Kligler (estudi de la utilització de la lactosa i la glucosa, la producció de gas i de SH₂), l'agar de lisina i ferro (detecció dels enzims lisina descarboxilasa i lisina desaminasa), el medi de glucosa amb campana invertida de Durham (detecció molt sensible de la producció de gas) i un medi per a l'estudi de l'indole (el MIO permet detectar a més de l'indole, l'ornitina descarboxilasa i la mobilitat), que permetran de forma relativament senzilla, amb l'ajuda de proves addicionals com l'oxidasa, l'ONPG (per a la detecció de la β-galactosidasa), la fenilalanina desaminasa i la ureasa, la identificació presumptiva de les soques estudiades.⁷ Posteriorment es confirmarà la identificació metabòlica mitjançant bateries convencionals.⁶⁻⁸

Quan s'hagi identificat l'espècie, en el cas de les salmonel·les, les shigel·les, les yersínies, *E. coli* i els vibrions, es farà la identificació serològica mitjançant l'aglutinació amb antisèrums específics per determinar el serogrup o el serotip del bacteri aïllat. L'aglutinació es farà preferentment a partir de colònies llises d'un cultiu de 18-24 hores en medi de Kligler o d'agar sang.

El serotipat de salmonel·la comporta l'estudi de l'antigen O (somàtic), que determina el serogrup, i de l'antigen H (flagel·lar), que juntament amb l'O determinen el serotip. Les salmonel·les són bifàsiques, per la qual cosa cal estudiar els antigens flagel·lars de les dues fases (1 i 2) per determinar el serotip.

Cal destacar que només els serogrupos O3, O9, i O8 de *Y. enterocolitica* són patògens per a l'ésser humà, i tenen una àmplia distribució geogràfica, encara que diferenciada. Els serogrupos O4,32; O13a,13b; O18; O20 i O21 també són patògens per a l'ésser humà, estan inclosos en un biotip esculina negatiu (1B), són infreqüents i estan restringits a Nord-amèrica.⁸

Només els serogrupos O1 i O139 de *V. cholerae* produeixen toxina colèrica i causen el còlera epidèmic, per la qual cosa és absolutament imprescindible identificar el serogrup de totes les soques de *V. cholerae* aïllades. Després d'identificar la serovarietat toxigènica de *V. cholerae* (O1 i O139) cal determinar la producció de la toxina per tècniques immunològiques o genètiques, perquè no totes les soques aïllades de casos esporàdics produeixen la toxina.

Encara que el coprocultiu és una tècnica que requereix com a mínim 5 dies per a la seva realització completa, es pot tenir un diagnòstic presumptiu molt acurat dels enterobacteris (inclosos *E. coli* O157:H7 i vibrions enteropatógens) fent servir un sistema de cribratge com el descrit anteriorment, complementat amb l'aglutinació de la soca amb antisèrums específics, en un període de temps més curt, de 48 a 72 hores després de la sembra de la mostra.

La identificació serològica d'*E. coli* enterohemorràgica es fa només en aquelles soques crescudes en medis selectius per a *E. coli* O157, realitzant l'aglutinació amb els antisèrums preparats enfront de l'antigen somàtic O157 i flagel·lar H7. S'han desenvolupat mètodes comercialitzats per facilitar aquesta identificació serològica mitjançant l'aglutinació amb partícules de làtex o per EIA.

E. coli enteroinvasiva (ECEI) és similar a les shigel·les des del punt de vista fenotípic (no fermenten la lactosa, són immòbils, lisina descarboxilasa negativa i agasògenes) i pertanyen a un nombre reduït de serovarietats. Una vegada aïllat i identificat metabòlicament per tècniques convencionals, i si és possible serològicament, s'ha de confirmar la identificació fent paleosos els factors d'invasivitat. Aquests factors es poden demostrar per la prova de Serény, que produirà una queratoconjuntivitis després de la inoculació de la soca en el sac conjuntival d'un conill d'índies, per la invasió de la línia cel·lular HeLa, o per tècniques moleculars.

Les soques d'*E. coli* enteropatógena clàssica (ECEP), enterotoxigèna (ECET), enteroagregativa (ECEA) i amb adherència difusa (ECAD), que al nostre medi no s'han detectat com a agents de toxiinfecció alimentària, estan relacionades amb la diarrea del viatger. A diferència d'*E. coli* O157 i d'ECEI, no tenen característiques diferencials amb la resta de soques d'*E. coli* comensals del tub digestiu, per tant, com que no hi ha marcadors bioquímics, la detecció se centra en l'estudi dels factors de patogenicitat per PCR con-

Taula 28 . Factors de patogenicitat d'*Escherichia coli*

Patogrup d' <i>E. coli</i>	Factors de virulència	Gens implicats
Enteropatògena clàssica (ECEPc)	Intimina <i>Bundle-forming pilus</i> (BFP)	<i>eae</i> <i>bfpA</i>
Enterohemorràgica (ECEH)	Intimina Toxines de Shiga (Stx1, Stx2) Enterohemolisina (EntHly)	<i>eae</i> <i>stx1, stx2</i> <i>E-hly</i>
Enterotoxigena (ECET)	Toxina termolàbil (LT) Toxina termoestable (ST)	<i>lt</i> <i>st</i>
Enteroinvasiva (ECET)	Factor d'invasivitat (<i>ipaH</i>) Plasmidi d'invasivitat (IAL)	<i>ipaH</i> <i>ial</i>
Enteroagregativa (ECEA)	Fimbries I i II (AAF/I i AAF/II) Enterotoxina termoestable (EAST-I)	<i>aggA, aafA</i> <i>astA</i>
Amb adherència difusa (ECAD)	Fimbria F1845 Proteïna de membrana externa (AIDA-I)	<i>daaE</i> -

vencional o simultàniament per una PCR amb diversos iniciadors (PCR multiplex) i per PCR a temps real²³⁻³³ (taula 28).

Encara que per a *E. coli* no hi ha una correlació estreta entre el serogrup i l'enteropatogenicitat, estudis que avaluen per PCR la presència de gens associats a diarrea (*eae, stx, aggR, est, elt ipaH, ial*) han demostrat que les soques virulentes pertanyen, en general, a un nombre reduït de serogrups com ara l'O119, O111, O126, O78, O55, etc. És possible que aquest fet depengui del perfil epidemiològic d'una àrea geogràfica determinada.³⁴

Quan se sospita un possible brot de toxiinfecció per *S. aureus, C. perfringens* o *B. cereus* per detectar les toxines s'haurien d'estudiar els aliments. Es pot confirmar el diagnòstic d'intoxicació per *S. aureus* per l'aïllament de *S. aureus* productor d'enterotoxina a la femta d'un malalt o de dos o més malalts amb el mateix lisotip.

En cas d'intoxicació per *B. cereus*, es pot trobar a l'aliment la toxina emetitzant, però el diagnòstic, generalment, s'obté mitjançant l'aïllament del microorganisme en el coprocultiu de dos o més pacients involucrats en el brot ($\geq 10^5$ ufc per gram de femta), però no a la femta dels controls.

La detecció de l'enterotoxina es realitza en centres especialitzats. La confirmació d'un brot per *C. perfringens* es pot fer demostrant la presència de 10^6 ufc per gram de femta dels pacients o per detecció de l'enterotoxina a la femta per tècniques immunològiques.

El gran nombre de bacteris i fins i tot de virus i protozous enteropatògens que poden estar implicats en les toxiinfeccions alimentàries fa que de vegades sigui difícil arribar de forma ràpida al diagnòstic etiològic. En el cas dels bacteris, en la tècnica convencional del coprocultiu la utilització de diversos medis selectius per a cada enteropatògen, diferents temperatures d'in-

cubació, tècniques alternatives de filtració etc., amb l'objectiu d'afavorir l'aïllament dels agents causals de toxiinfecció alimentària, pot no ser adient per a l'aplicació sistemàtica en la rutina a causa de la seva complexitat, el temps requerit i la relació entre cost i efectivitat.

Encara que ja hi ha tècniques complementàries al coprocultiu per detectar i identificar els diferents bacteris enteropatògens a partir de cultiu, com les immunològiques i les genètiques, actualment s'estan desenvolupant diverses tècniques d'EIA,³⁴⁻³⁸ PCR multiplex,^{39,40} PCR a temps real,⁴¹⁻⁴³ i xips de DNA⁴⁴ per a la detecció de enteropatògens com *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *E. coli* enterohemorràgica, entre d'altres, directament de la mostra fecal.

Malgrat el potencial de les tècniques de PCR per al diagnòstic microbiològic i en particular de les toxiinfeccions alimentàries, ara per ara no han substituït les tècniques convencionals a causa de l'elevat cost, la complexitat i l'estat de desenvolupament. Hi ha encara problemes importants que cal resoldre. La presència d'inhibidors en el material fecal és un dels obstacles més grans que posen límit a la utilització de la PCR per detectar directament els enteropatògens a la femta. La utilització de diverses estratègies per eliminar els inhibidors ha donat lloc al desenvolupament de kits comercials per extreure DNA de mostres fecals amb un alt rendiment.⁴⁵ Un altre problema inherent a la mateixa PCR és la manca d'estandardització i d'automatització, que impedeix que per ara sigui útil en el diagnòstic de rutina.⁴⁶

Quan cal estudiar un gran nombre de mostres per a la investigació de brots, els sistemes de cribratge per a tots els enteropatògens poden ser útils i constituir una alternativa sensible i específica, com ara les PCR multiplex, de manera que així es restringirà el cultiu només a aquelles femtes que hagin estat positives.

9.2.4 Estudi virològic

Tradicionalment el diagnòstic dels virus causants de gastroenteritis es duia a terme per observació directa mitjançant microscòpia electrònica a partir de mostres fecals. Òbviament, a més de disposar de microscopi cal una gran experiència per arribar a visualitzar, i sobretot identificar, els diferents virus. No obstant això, alguns virus com els rotavirus i els adenovirus tenen una mida i una morfologia que permeten identificar-los amb un marge d'error petit. Per als virus més petits, com els calicivirus i els astrovirus, pot ser bastant més difícil, tot i que es té en compte algun dels seus trets morfològics característics. Un complement a l'estudi microscòpic és la combinació amb tècniques immunològiques com la immunomicroscòpia, que permet concentrar els virus per l'acció aglutinant dels anticossos, cosa que facilita la seva visualització i identificació.

S'han introduït sistemes de diagnòstic ràpid per detectar els antígens vírics basats en tècniques d'ELISA, aglutinació en làtex o immunocromatografia; primer per als rotavirus i els adenovirus, i més tard per als norovirus i els astrovirus. Encara que aquestes darreres tècniques presenten una sensibilitat superior que la microscòpia electrònica, cap d'elles s'acosta a l'exquisida sensibilitat que proporcionen les tècniques basades en l'amplificació molecular. L'amplificació genòmica es du a terme mitjançant la tècnica de PCR, acoblada prèviament a una transcripció reversa (RT) en el cas dels virus RNA.^{1,8,47}

Les tècniques moleculars permeten no solament detectar genèricament el virus, sinó també el seu tipatge. El tipatge es fa utilitzant encebats específics de genotip, o bé mitjançant l'anàlisi de les seqüències dels amplificadors. Una alternativa és l'ús de tècniques de quantificació molecular a temps real, que permeten la detecció i la quantificació emprant controls d'estandardització per a una garantia de qualitat superior.

9.2.5 Estudi parasitològic

El diagnòstic de la majoria de les protozoosis intestinals es basa en el reconeixement morfològic per observació microscòpica de les formes trofozoítiques o cístiques presents a la femta. Si es disposa de femta fresca, es pot observar el moviment característic dels trofozoïts d'algunes espècies, en els casos en què aquests estiguin viables a la mostra. A la femta fixada i acolorida la identificació de trofozoïts i cists es fa a partir de la morfologia i les estructures característiques. Els trofozoïts només s'observen en femtes diarreïques i són molt làbils quan han abandonat el tub digestiu, per la qual cosa només s'observen quan la mostra ha estat fixada ràpidament. El més habitual és fer el diagnòstic a partir de les formes de resistència (cists per a les amebes i flagel·lats, oocists per als apicomplexos i espores per als microsporidis).

El reactiu de fixació més utilitzat és el MIF (mertiolat, iode i formol), que a més de fixar tenyeix els paràsits presents. També s'utilitzen altres fixadors com el formol al 10% o el SAF (acetat sòdic, àcid acètic i formol).

Les tècniques de detecció d'antigen mitjançant immunofluorescència o tècniques immunoenzimàtiques o d'immunocromatografia es fan servir cada vegada més. La detecció d'anticossos específics és especialment útil per al diagnòstic de les amebosis invasores i extraintestinals, causades per *Entamoeba histolytica* s.st.

Les tècniques de PCR presenten avantatges sobre les tècniques convencionals per les elevades sensibilitat i especificitat. D'altra banda, després de l'amplificació del genoma, la determinació del polimorfisme dels fragments de restricció de la seqüència amplificada permet identificar en alguns protozoous el seu genotip, amb finalitats taxonòmiques o epidemiològiques.^{1,2,7,48,49}

9.3 Anàlisi microbiològica dels aliments

En la investigació d'un brot de toxiinfecció alimentària, la informació que proporciona l'anàlisi microbiològica dels aliments implicats és crítica a l'hora de confirmar el brot. L'aïllament i el posterior estudi de marcadors epidemiològics d'un microorganisme patògen i/o les seves toxines en un aliment permeten determinar l'origen i naturalesa del brot.⁵⁰

La decisió de les anàlisis que cal realitzar en general ve determinada per l'estudi epidemiològic de camp, però sovint no s'arriba a una hipòtesi sobre l'aliment implicat ni sobre l'agent etiològic abans d'iniciar l'anàlisi microbiològica dels aliments sospitosos. Els símptomes clínics en les persones malaltes, el període d'incubació i les característiques dels aliments disponibles són els criteris de decisió de quins són els microorganismes per investigar i els mètodes que es faran servir.

Alguns microorganismes patògens, com per exemple *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157 i *Norovirus*, poden ser els agents causals d'una toxiinfecció alimentària fins i tot quan es troben a baixes concentracions en els aliments. Davant de la sospita d'aquests microorganismes, l'anàlisi microbiològica dels aliments es basa en la seva detecció, i no és necessari determinar el nivell de contaminació.

Altres microorganismes com *S. aureus*, *B. cereus*, *C. perfringens* i *L. monocytogenes*, en la majoria del casos han d'estar presents en concentracions elevades en l'aliment per produir els símptomes clínics en les persones que han consumit l'aliment contaminat. En aquest cas, l'anàlisi microbiològica ha de ser quantitativa, amb l'objectiu de determinar el nombre de microorganismes patògens presents a l'aliment.

La identificació del vehicle en un brot de toxiinfecció alimentària depèn, en gran part, de la disponibilitat, la recollida correcta i el transport al laboratori de les mostres dels aliments epidemiològicament implicats, així com de l'aplicació d'uns mètodes d'anàlisi de detecció i recompte de microorganismes patògens i les seves toxines normalitzats per organismes internacionals o validats pel mateix laboratori.

9.3.1 Transport de les mostres al laboratori

Per confirmar l'agent etiològic en els aliments implicats en un brot de toxiinfecció alimentària, és important que les mostres d'aliments arribin al laboratori per a l'anàlisi tan aviat com sigui possible. És convenient que el laboratori sigui alertat amb antelació del nombre i el tipus de mostres que caldrà analitzar i del possible agent causal implicat, si se sospita o es coneix.

Amb l'objectiu d'assegurar que les condicions microbiològiques no varien des de la presa de les mostres fins a l'arribada al laboratori, la recollida

dels aliments s'ha d'haver fet de manera adient pel que fa a l'ús d'estrís i recipients estèrils (apartat 8.4.6.4) així com respecte a la temperatura durant el transport.

Les condicions de temperatura apropiades durant el transport i la conservació de les mostres d'aliments abans de l'anàlisi s'han de basar en la hipòtesi de l'agent causal, microorganismes o toxines, així com el tipus d'aliment.⁵¹ Els productes refrigerats s'han de transportar en contenidors rígids, amb refrigerant suficient per mantenir una temperatura de 0 °C - 4 °C. Els aliments congelats han d'arribar al laboratori en les mateixes condicions de congelació. En el cas d'aliments no peribles (conserves, productes dessecats, etc.), el transport i la conservació de les mostres es poden fer a temperatura ambient.

La congelació dels aliments peribles s'ha d'evitar, ja que podria donar lloc a la destrucció dels microorganismes patògens. Una refrigeració massa prolongada (superior a 36 hores) tampoc és convenient, atès que podria permetre el sobrecreixement de la microflora psicròtrofa competitiva present als aliments.⁵²

9.3.2 Estudi bacteriològic

La detecció de bacteris enteropatògens en aliments presenta una complexitat superior que en mostres clíniques. En general, en mostres de malalts aguts els patògens es troben en concentracions elevades, mentre que als aliments els microorganismes patògens poden estar en nivells molt baixos o bé lesionats o estressats, especialment en aliments tractats (congelats, dessecats, amb inhibidors, conservants, tractament tèrmic parcial, etc.). En l'anàlisi microbiològica dels aliments, la homogeneïtzació de la mostra analítica és una etapa molt important per obtenir resultats fidels, representatius de la mostra rebuda, i es fa segons protocols específics per a cada tipus d'aliment.⁵³

Per augmentar la probabilitat d'aïllar els bacteris patògens als aliments, la majoria dels mètodes de detecció inclouen una etapa d'enriquiment selectiu que permet multiplicar el microorganisme diana i inhibir la proliferació de la microflora interferent. Sovint, prèviament a l'enriquiment selectiu es du a terme un preenriquiment no selectiu per recuperar els bacteris estressats o lesionats.⁵⁴ En l'estudi d'una toxiinfecció alimentària, per millorar la sensibilitat de la detecció del patògen de vegades les mostres es processen mitjançant més d'un mètode.

En els mètodes tradicionals per cultiu, a partir dels brous d'enriquiment es du a terme una sembra en medis sòlids selectius i diferencials. Posteriorment, a partir de les soques aïllades que presumptivament corresponen a un patògen, es fa la confirmació bioquímica i/o serològica. Si es

tracta d'un microorganisme enterotoxigènic, addicionalment s'investiga la presència de la toxina en l'aliment i/o la capacitat dels microorganismes aïllats de produir-la.

Quan cal conèixer el nivell de contaminació d'un microorganisme, es fa una sembra directa a partir d'una suspensió de l'aliment i de les dilucions decimals apropiades en medis selectius diferencials, i posteriorment es confirma la identificació de les soques aïllades.

Per reduir el temps d'obtenció de resultats es poden fer servir mètodes ràpids per detectar i identificar microorganismes i les seves toxines, alguns dels quals estan comercialitzats.⁵⁵ Aquests mètodes donen resultats positius entre un i dos dies abans que els mètodes convencionals. La majoria estan basats en reaccions immunològiques⁵⁶ o en la detecció d'àcids nucleics,⁵⁷ i sovint no inclouen l'aïllament del microorganisme, que és necessari per a l'estudi de marcadors epidemiològics com el biotip, el serotip i el fagotip, així com també per determinar els factors de virulència (apartat 10). Per això, en l'estudi de brots de toxiinfecció alimentària els mètodes ràpids que no inclouen l'aïllament del patògen són vàlids només com a cribratge de mostres negatives, i en general els resultats positius s'han de confirmar per cultiu. Els mètodes ràpids són especialment útils per identificar i detectar toxines a partir de l'aliment i/o de les soques aïllades.

Els mètodes de referència més utilitzats es poden consultar en diversos tractats.⁵⁸⁻⁶¹

Salmonella

Els mètodes de referència per detectar *Salmonella*^{61,62} incorporen una etapa de preenriquiment específica per a cada tipus d'aliment que cal analitzar, amb l'objectiu de revivificar les cèl·lules que poden estar estressades. El brou de preenriquiment més comú és l'aigua de peptona tamponada. Atès que tots els serovars de *Salmonella* són potencialment patògens per a l'ésser humà, per garantir la recuperació del màxim nombre de serovars en la fase d'enriquiment s'inclouen dos brous selectius amb inòcul i temperatura d'incubació diferent. L'aïllament es du a terme en dos medis selectius diferencials per augmentar la sensibilitat de la detecció, ja que els comportaments bioquímics i fisiològics poden variar segons el serovar i la soca de *Salmonella*.⁶³ En la confirmació dels cultius cal tenir en compte les característiques atípiques que presenten algunes soques, com és el cas de les salmonel·les lisina negatives o lactosa positives.

Les soques presumptives de *Salmonella* es confirmen mitjançant la identificació bioquímica i serològica. La identificació metabòlica es pot fer amb diferents sistemes multitest comercialitzats.⁶⁴ L'estudi antigènic es du a ter-

me mitjançant tècniques d'aglutinació en porta amb antisèrums de *Salmonella* somàtics, flagel·lars i capsulars comercialitzats.⁶⁵

Com a alternativa a les tècniques convencionals de detecció de *Salmonella* en aliments, s'han proposat nombrosos mètodes ràpids, que són mètodes de cribratge i requereixen confirmació per cultiu dels resultats positius, com les tècniques immunoenzimàtiques, les tècniques d'hibridació de DNA⁶⁶ i de la reacció en cadena de la polimerasa (PCR).⁶⁷

Per confirmar un aliment com a vehicle d'un brot de toxiinfecció alimentària per *Salmonella* cal aïllar la soca de *Salmonella* del mateix serovar i amb les mateixes característiques de macrorestricció genòmica que les soques aïllades als malalts.

Campylobacter

C. jejuni, *C. coli*, *C. lari* i *C. upsaliensis* són espècies enteropatògenes per a l'ésser humà que en microbiologia dels aliments s'agrupen sota la denominació de campilobacteris termotolerants, grup *C. jejuni*, o simplement *Campylobacter*.

Els aliments que s'han d'analitzar per a *Campylobacter* no es poden congelar ni conservar en condicions de refrigeració prolongada, i cal analitzar-los al més aviat possible, abans que els microorganismes perdin viabilitat.⁶⁸ Atès que aquestes espècies de *Campylobacter* no creixen per sota dels 30 °C i són sensibles a les concentracions d'oxigen normals a l'atmosfera,⁶⁹ en general estan presents en un nombre baix als aliments, excepte en aus processades recentment.

Per detectar-lo és important fer servir tècniques d'enriquiment selectiu. S'han desenvolupat diversos medis d'enriquiment i agars d'aïllament selectiu, que s'empren en els mètodes de referència.^{70,71} La incubació dels cultius es fa a una temperatura d'entre 41 °C i 42° C, i en condicions de microaerofília (5 % d'O₂, 10 % de CO₂ i 85 % de N₂). La confirmació mitjançant proves bioquímiques tradicionals de les colònies presumptives de *Campylobacter* és complexa, i actualment es pot fer mitjançant mètodes immunològics com el test d'aglutinació de partícules de làtex. El serotipat de les soques és interessant des del punt de vista epidemiològic per confirmar el brot.

Alternativament, per a la detecció i identificació es poden emprar mètodes ràpids d'enzimoimmunoassaig fluorescent, encara que requereixen la confirmació per cultiu dels resultats positius. També s'han desenvolupat tècniques de PCR.⁷²

Atesa la baixa dosi infectant de *Campylobacter*, la seva presència en aliments associats epidemiològicament a un brot, encara que sigui en concentracions baixes, té significat perquè implica aquest microorganisme com a agent etiològic del brot.

Shigella

A diferència dels brots causats per altres bacteris enteropatògens de transmissió alimentària, els brots de shigel·losi sovint es detecten a partir de la notificació dels laboratoris clínics i de la investigació epidemiològica. Per aquest motiu l'aliment implicat normalment no s'identifica o s'identifica tard, per la qual cosa és difícil disposar dels aliments sospitosos per a l'anàlisi microbiològica.⁷³

Shigella és difícil d'aïllar als aliments quan està present a concentracions baixes o quan aquests es conserven massa temps en refrigeració. Qualsevol retard en la realització de l'anàlisi disminueix la probabilitat de detecció, per això es recomana fer-la al més aviat possible.

Els mètodes de detecció de *Shigella* incorporen una fase d'enriquiment en un brou selectiu amb novobiocina incubat en anaerobiosi. Per augmentar la recuperació, es fan servir dos o tres medis sòlids d'aïllament de diferent capacitat selectiva.^{74,75} La identificació dels subgrups de les soques aïllades es pot realitzar per mitjà de proves bioquímiques convencionals o de sistemes d'identificació comercialitzats. Per confirmar la identificació bioquímica de les shigel·les és essencial l'estudi antigènic. Aquest es fa a terme amb antisèrums somàtics polivalents comercialitzats, mitjançant la tècnica d'aglutinació en portaobjectes. L'aplicació de mètodes basats en la PCR⁷⁶ o mètodes d'hibridació de DNA⁷⁷ també són útils per detectar aquest microorganisme.

Cal caracteritzar les soques de *Shigella* aïllades en un aliment amb tècniques moleculars i comprovar que són idèntiques a les aïllades en les persones malaltes i, si escau, en la persona manipuladora d'aliments implicada, que generalment és l'origen del brot.⁷⁸

Escherichia coli

Les soques patògenes d'*E. coli* enterotoxigènes (ECET), enteropatògenes (ECEP), enterohemorràgiques (ECEH), enteroinvasives (ECEI), enteroagregatives (ECEA), i amb adherència difusa (ECAD) són molt diverses pel que fa al fenotip, per la qual cosa no s'han desenvolupat mètodes microbiològics de referència específics per detectar-les en aliments, excepte en el cas d'*E. coli* O157:H7.

L'aïllament es fa per sembra d'un medi d'enriquiment tipus brou GN en més d'un medi sòlid (agar MacConkey, EMB de Levine, Hektoen).⁷⁹ Independentment del mètode emprat, la investigació d'*E. coli* patògen es basa en la confirmació bioquímica d'*E. coli*, el serotipat posterior i l'estudi dels factors de virulència associats a un grup patogènic específic. Per identificar bioquímicament *E. coli* normalment es fan servir sistemes miniaturitzats. Per al serotipat hi ha antisèrums somàtics i flagel·lars comercialitzats.

Com que la confirmació de soques patògenes es fa detectant els factors de virulència, no n'hi ha prou amb la determinació del serotip per confirmar la soca aïllada com a patògena, excepte en el cas d'*E. coli* O157:H7.⁸⁰ L'estudi de factors de virulència es pot fer per mètodes fenotípics, però és més pràctic emprar mètodes genètics com ara sondes de DNA⁸¹ o PCR.⁸²

En el cas d'ECET, les toxines LT i ST es poden detectar a l'aliment i en cultius purs per tècniques d'ELISA i d'aglutinació passiva en làtex. També s'han desenvolupat tècniques de PCR i d'hibridació de DNA.⁸³

Per a la detecció en els aliments d'*E. coli* O157:H7, que és el serotip més freqüentment implicat en brots de toxiinfecció alimentària, la detecció en els cultius es basa en el caràcter sorbitol i β -D-glucuronidasa negatiu, que els diferencia de la majoria dels altres *E. coli*.⁸⁴ Alguns mètodes per a l'aïllament d'aquest serotip d'*E. coli* inclouen un enriquiment selectiu, seguit d'un procés de separació immunomagnètica per augmentar la detecció del microorganisme.⁸⁵

La identificació bioquímica habitualment es realitza per sistemes comercialitzats. La identificació del serogrup es pot obtenir per un test d'aglutinació en partícules de làtex, que detecta l'antigen O157, i del serotip, per l'estudi antigènic amb els antisèrums O157 i H7. La detecció d'*E. coli* O157:H7 també es pot fer mitjançant tècniques immunoenzimàtiques, sondes de DNA i mètodes basats en la PCR.^{86,87}

La detecció en un aliment d'una soca d'*E. coli* patògena amb uns factors de virulència compatibles amb el quadre clínic de les persones malaltes permet sospitar l'origen d'un brot de toxiinfecció alimentària.

Yersinia enterocolitica

Tradicionalment, els mètodes emprats per detectar *Y. enterocolitica* als aliments, tenint en compte el seu caràcter de bacteri psicròtrof, es basaven principalment en l'enriquiment en fred (a 4 °C) seguit de l'aïllament en un medi selectiu.^{88,89} Actualment, amb l'objectiu de reduir els terminis d'obtenció de resultats i afavorir l'aïllament de tots els serotips o biotips de *Y. enterocolitica*, l'enriquiment es fa a 25 °C, i es recomana la utilització de dos brous selectius:⁹⁰ el brou peptona, sorbitol i sals biliars (PBS) i el brou d'irgasan i clorat potàssic (ITC), que ha estat proposat per a l'aïllament d'un dels bio-serogrups patògens més freqüents, *Y. enterocolitica* biotip 4 serogrup O3.⁹¹ La utilització de dos medis selectius a l'etapa d'aïllament⁹² i el tractament amb àlcali diluït⁹³ del cultiu d'enriquiment en el brou PBS, abans de la sembra en placa, millora molt l'especificitat i la sensibilitat del mètode. Els medis selectius diferencials més emprats són l'agar de cefsulodina, irgasan i novobiocina (CIN) i l'agar *Salmonella-Shigella* amb desoxicolat sòdic i clorur càlcic (SSDC).

La determinació del biotip i el serotip associats a la patogenicitat és important, ja que la majoria de les soques de *Y. enterocolitica* que s'aïllen als aliments són soques no patògenes del biotip 1A.⁹⁴ En les soques de *Y. enterocolitica* corresponents a un biotip associat a patogenicitat, cal confirmar la presumpta patogenicitat determinant si el serotip correspon a un dels associats a soques virulentes, com són el O3, el O8, el O9, i el O5,27. També es pot determinar la presència de caràcters associats a la virulència per distingir les soques potencialment patògenes. Entre d'altres, els que mostren millor correlació amb patogenicitat són la prova de la pirazinamida, la hidròlisi de l'esculina i l'autoaglutinació a 37 °C.⁹⁵

Staphylococcus aureus

L'anàlisi microbiològica consisteix en una tècnica de recompte per determinar el nivell de contaminació d'aquest microorganisme, l'estudi de la capacitat enterotoxigènica de les soques aïllades, i també la detecció de la toxina estafilocòccica directament a l'aliment.

La producció d'enterotoxina estafilocòccica està estretament relacionada amb la capacitat de coagular el plasma de conill *in vitro* (prova de la coagulasa), característica que presenta *S. aureus* i altres espècies d'estafilococs com *S. intermedius* i *S. hycus* que també poden ser productors d'enterotoxina. L'aïllament d'estafilococs coagulasa positiva, independentment de l'espècie, té significat a l'hora de valorar la causa de la toxiinfecció alimentària.

El recompte d'estafilococs coagulasa positiva es fa per sembra en superfície d'una suspensió de l'aliment i dilucions decimals apropiades en un medi sòlid selectiu diferencial i posterior confirmació de les soques aïllades.^{96,97} Els agents selectius emprats més sovint als medis d'aïllament són el clorur sòdic en concentració elevada i el tel·lurit potàssic. El medi més comú és l'agar de Baird-Parker, que té una bona capacitat diferencial davant d'altres espècies d'estafilococs. En mostres de productes làctics es recomana l'ús de medis sòlids d'aïllament que porten incorporat plasma de conill per diferenciar les soques coagulasa positiva directament en l'agar, ja que aquests productes poden contenir estafilococs de característiques colonials atípiques.⁹⁸ La identificació de *S. aureus* es pot dur a terme amb galeries d'identificació miniaturitzades.

Els mètodes ràpids més utilitzats per determinar l'enterotoxina estafilocòccica en cultius purs i/o directament d'aliments es basen en l'ús d'anticossos específics monoclonals o policlonals, com l'aglutinació passiva en làtex i tècniques d'ELISA.⁹⁹ Entre aquestes últimes hi ha sistemes automatitzats com el VIDAS (bioMérieux) que donen molt bons resultats.

No n'hi ha prou amb un nombre elevat d'estafilococs coagulasa positiva per implicar un aliment com a vehicle de toxiinfecció; cal demostrar la capacitat enterotoxigènica de les soques i/o la presència de l'enterotoxina a l'aliment.

Un recompte d'estafilococs coagulasa positiva baix pot ser compatible amb una concentració d'enterotoxina en l'aliment suficient per provocar els símptomes de la intoxicació estafilocòccica, ja que es pot haver produït una reducció de la població d'estafilococs a l'aliment a causa de, per exemple, un tractament tèrmic que no ha inactivat l'enterotoxina preformada.¹⁰⁰

Clostridium perfringens

Els aliments implicats normalment estan contaminats amb un elevat nombre de microorganismes ($>10^5$ ufc/g).

Durant la refrigeració dels aliments *C. perfringens* pot perdre viabilitat. Aquesta reducció del nombre de microorganismes dificulta la interpretació dels resultats per establir *C. perfringens* com a agent causal d'un brot. Si un aliment s'ha de mantenir refrigerat abans de l'anàlisi més de 48 hores, s'hi ha d'afegir glicerol fins a una concentració del 10 % i s'ha de congelar a -60 °C.¹⁰¹

Es du a terme una anàlisi microbiològica quantitativa mitjançant la sembra d'una suspensió de l'aliment i dilucions decimals apropiades en un medi sòlid selectiu diferencial incubat en anaerobiosi.^{102,103} Els medis d'aïllament i recompte de *C. perfringens* utilitzats, el més comú dels quals és el triptosa, sulfit i cicloserina (TSC), contenen antibiòtics per inhibir el creixement d'altres bacteris anaerobis o anaerobis facultatius, ferro i sulfits com a components per a la diferenciació de les colònies de *C. perfringens*. Les soques presumptives es confirmen mitjançant proves bioquímiques convencionals o per mètodes ràpids com la PCR.¹⁰⁴

Tot i que l'enterotoxina de *C. perfringens* en general es produeix *in vivo*, a l'intestí, durant l'esperulació del bacteri i no està preformada en l'aliment, en condicions adequades per a l'esperulació pot ser que la toxina sigui present als aliments.¹⁰⁵ Els mètodes més utilitzats per detectar la toxina als aliments i a les soques aïllades són tècniques d'immunoassaig enzimàtic i d'aglutinació passiva reversa en làtex.

La tipificació de la toxina de *C. perfringens* no té valor com a marcador epidemiològic, ja que la majoria de les toxines implicades són del tipus A. La determinació del serotip de les soques aïllades en els aliments pot ser d'interès com a marcador epidemiològic per associar *C. perfringens* a un brot de toxiinfecció alimentària.

Bacillus cereus

No s'ha demostrat que la refrigeració dels aliments pugui causar una reducció en el nombre de microorganismes, per això els aliments es poden mantenir fins a 4 dies a 4 °C abans de l'inici de l'anàlisi.¹⁰⁶

Els aliments implicats, en la majoria dels casos, presenten un nivell elevat de contaminació per *B. cereus* ($> 10^6$ ufc/g).

L'anàlisi microbiològica de *B. cereus* és de tipus quantitatiu, mitjançant mètodes de sembra en superfície d'una suspensió de l'aliment i de les posteriors dilucions decimals, en un medi sòlid selectiu diferencial.¹⁰⁷ El que s'empra més sovint és l'agar de manitol, rovell d'ou i polimixina (MYP). El mètode de referència ISO¹⁰⁸ no considera la identificació d'espècie, i les proves bioquímiques realitzades només confirmen les soques aïllades com a pertanyents al "grup *B. cereus*", ja que la diferenciació fenotípica de *B. cereus* i altres patògens relacionats (*B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. neihenstephanensis*) és difícil d'obtenir.¹⁰⁹

Per detectar la toxina diarregènica de *B. cereus* a l'aliment i en cultius es fan servir mètodes de detecció d'antígens.

La detecció de *B. cereus* es pot realitzar mitjançant mètodes ràpids, com ara tècniques moleculars basades en PCR convencional i en temps real que permeten també la quantificació.

Listeria monocytogenes

Malgrat que *L. monocytogenes* és bastant resistent a la congelació, en certs aliments es pot donar una reducció del nombre de microorganismes quan es conserven en aquestes condicions. Per aquest motiu, en el cas d'aliments peribles no és recomanable congelar les mostres abans d'analitzar-los.¹¹⁰ El creixement de *L. monocytogenes* en aliments refrigerats no és homogeni i cal analitzar les parts on s'espera una concentració superior de microorganismes, com per exemple a prop de la superfície en el cas dels formatges.¹¹¹ Actualment els protocols de detecció inclouen una o dues etapes d'enriquiment i un aïllament en dos medis selectius per augmentar el rendiment de l'aïllament.¹¹² Un dels medis que ha facilitat la diferenciació de *L. monocytogenes* és el cromogènic d'Ottaviani i Agosti.¹¹³

La tècnica quantitativa és recomanable quan s'esperen recomptes elevats de *L. monocytogenes* i es du a terme mitjançant sembra directa d'una suspensió de la mostra i posteriors dilucions decimals en un medi sòlid selectiu. Segons les característiques i el processament de l'aliment, prèviament a la sembra en medis sòlids es du a terme una etapa de revivificació de les cèl·lules bacterianes lesionades o estressades en un medi sense agents selectius, a temperatura ambient, durant un període de temps no superior a una hora.

La confirmació i l'especiació de les soques de *Listeria* es pot obtenir per proves bioquímiques convencionals o mitjançant tests bioquímics miniaturitzats. L'estudi antigènic es desenvolupa mitjançant la tècnica d'aglutinació en portaobjecte amb antisèrums comercialitzats.

Listeria es pot detectar als aliments amb mètodes ràpids d'ELISA.¹¹⁴ Alguns sistemes com el VIDAS *Listeria* (bioMérieux), completament automatitzat,

és un dels pocs mètodes específics per a *L. monocytogenes*, encara que requereix la confirmació dels resultats positius. Altres mètodes ràpids es basen en sondes de DNA i d'altres en la PCR.¹¹⁵

En els brots d'infecció sistèmica causats per *L. monocytogenes* d'origen alimentari és molt difícil disposar de l'aliment per a l'anàlisi microbiològica, atès el llarg període d'incubació de la malaltia (2-6 setmanes) i la complexitat de l'estudi epidemiològic de camp. En el cas de les enteritis per *L. monocytogenes*, el període d'incubació és més curt (9-32 hores), i per tant és més fàcil obtenir l'aliment per a l'estudi microbiològic.

Clostridium botulinum

Atesa la gravetat de la toxiinfecció alimentària per toxina botulínica, és especialment important determinar, al més aviat possible, l'aliment implicat per evitar altres possibles casos de botulisme.¹¹⁶

Els aliments sospitosos de contenir toxina, fins i tot les conserves que presentin alteracions en el continent, s'han de conservar refrigerades. Les conserves amb el recipient bombat són més sospitoses de contenir toxina, ja que *C. botulinum* produeix gas durant el seu creixement.¹¹⁷

El mètode convencional per detectar les toxines botulíniques en aliments és el test de toxicitat en ratolins,¹¹⁸ que consisteix en la inoculació intraperitoneal en una sèrie de ratolins de característiques determinades, d'un extracte de l'aliment prèviament tractat amb tripsina per detectar les toxines de tipus proteolítiques, i un altre extracte sense tractar per determinar les toxines no proteolítiques. Com a control negatiu s'inoculen ratolins amb l'extracte escalfat a 100 °C durant 10 minuts.

La detecció de la toxina botulínica es considera positiva quan, en condicions determinades, els ratolins inoculats amb l'extracte no escalfat moren amb símptomes de botulisme durant les primeres 24 hores, en general entre les 4-6 hores, després de la inoculació. Un laboratori de referència tipifica la toxina.

S'han desenvolupat mètodes ràpids per detectar les toxines A, B, E, i F en aliments, com són els mètodes d'ELISA,¹¹⁹ els mètodes basats en la PCR¹²⁰ i les sondes de DNA.¹²¹

Per implicar un aliment com a causa d'un brot de botulisme, cal haver detectat la toxina a l'aliment, ja que la presència de *C. botulinum* viable, però no de la toxina, no és condició suficient per implicar aquest microorganisme com a agent causal de la intoxicació.

Vibrio cholerae

És convenient mantenir les mostres d'aliments a temperatures de refrigeració suaus (7 °C - 10 °C) i no més de 24 hores abans de iniciar l'anàlisi microbiològica. Si calgués congelar-la, s'ha de fer a -80 °C.¹²²

V. cholerae pot estar present en baix nombre en els aliments i sovint en competència amb poblacions molt més elevades dels altres bacteris de la família *Vibrionaceae*. Els mètodes de detecció preveuen dues fases d'enriquiment al mateix brou, aigua de peptona alcalina salina, en condicions de temperatura i temps d'incubació diferents, segons si l'aliment és congelat o fresc.¹²³

El medi d'aïllament més utilitzat és l'agar de tiosulfat, citrat, bilis i sacarina (TCBS). La identificació tradicional mitjançant proves bioquímiques de les soques presumptives de *V. cholerae*¹²⁴ es pot substituir per galeries d'identificació miniaturitzades, complementades amb proves de creixement en medis amb diferents concentracions de CINA.¹²⁵

L'estudi antigènic de les soques de *V. cholerae* és fonamental, ja que no totes les soques d'aquesta espècie produeixen toxina. La determinació del serogrup es fa mitjançant la tècnica d'aglutinació en portaobjectes. Els serogrups O1 i O139 són els únics que produeixen la toxina i per tant els responsables de brots i epidèmies de còlera.¹²⁶ Altres soques de *V. cholerae* no O1 no O139 també poden tenir activitat enteropatògena.

La determinació de la toxina colèrica es pot realitzar per tècniques d'hibridació de DNA¹²⁷ i de PCR.¹²⁸

***Vibrio parahaemolyticus* i altres espècies de vibrions**

Altres espècies de *Vibrio* poden ser patògenes per a l'ésser humà. *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus*, *V. hollisae* i *V. fluvialis* han estat implicades en toxiinfeccions alimentàries, especialment per consum de mol·luscs bivalves crus o poc cuinats.^{129,130}

Amb motiu de la sensibilitat dels vibrions a temperatures baixes, els aliments que formen part de l'estudi d'un brot convé conservar-los en refrigeració (7 °C - 10 °C) no més de 24 hores. Si la conservació de les mostres abans de l'inici de l'anàlisi s'ha de prolongar, cal congelar-les a -80 °C.

Vibrio creix en concentracions elevades de clorur sòdic i pH alcalí, característiques utilitzades en les tècniques d'aïllament. En la detecció de *V. parahaemolyticus* i altres espècies es fan servir els mateixos medis d'enriquiment i aïllament que en el cas de *V. cholerae*. A causa del nombre baix de microorganismes diana normalment presents als aliments i l'abundant microflora acompanyant, les tècniques de detecció més recents incorporen un enriquiment en aigua de peptona alcalina salina en dues etapes que consisteix en dues resembres en el medi d'aïllament després de períodes d'incubació diferents.¹²³ El medi d'aïllament selectiu diferencial més utilitzat és l'agar TCBS. Per a l'aïllament de *V. vulnificus* el medi que té una millor recuperació i capacitat diferencial és l'agar de cel·lobiosa, polimixina, colistina modificat (CPCm).¹²⁴

Per identificar l'espècie de *Vibrio*, en general s'empren galeries d'identificació miniaturitzades, complementades amb proves d'halotolerància amb brous amb diferents concentracions de CINA.¹²⁴

Les soques clíniques de *V. parahaemolyticus* es diferencien de les ambientals per la capacitat de produir una hemolisina directa termoestable, fenomen anomenat Kanagawa.¹³¹ Aquest factor de virulència es pot determinar mitjançant la sembra en l'agar Wagatsuma¹²⁴ o bé amb sondes de DNA¹³² i tècniques de PCR.¹³³

Dades obtingudes en casos de toxiinfeccions alimentàries per *V. parahaemolyticus* indiquen que els aliments implicats presenten un elevat nombre d'aquest microorganisme, 10^5 - 10^7 ufc de *V. parahaemolyticus* Kanagawa positiu per gram d'aliment. En la investigació de *V. parahaemolyticus*, a més de la detecció convé aplicar, per tant, tècniques quantitatives que es poden fer per sembra directa d'una suspensió de l'aliment o de dilucions decimals apropiades en un medi sòlid d'aïllament (TCBS), o mitjançant tècniques del nombre més probable (NMP) en aigua de peptona alcalina salina i posterior aïllament en l'agar TCBS.

Aeromonas* i *Plesiomonas

Atès que *Aeromonas* és capaç de créixer ràpidament en productes alimentaris frescos a una temperatura de 5 °C, les mostres d'aliments s'han de processar al més aviat possible per analitzar microbiològicament aquest microorganisme.

L'anàlisi quantitativa d'*Aeromonas* es du a terme per sembra directa a partir de dilucions apropiades de l'aliment en medis sòlids selectius diferencials. Actualment es fa servir el medi agar de midó i ampicil·lina (SSA),¹³⁴ que es basa en el fet que *Aeromonas* hidrolitza el midó i resisteix concentracions elevades d'ampicil·lina.¹³⁵ Segons les característiques de l'aliment, si s'esperen nivells baixos d'*Aeromonas*, la detecció requereix un enriquiment en brou triptosa soja ampicil·lina o en aigua peptona alcalina.¹³⁶

Aeromonas es diferencia amb facilitat d'altres bacteris relacionats com *Vibrio* i *Plesiomonas* mitjançant proves bioquímiques. La prova de l'oxidasa és útil per diferenciar-les dels enterobacteris. Per a la identificació bioquímica d'espècie del gènere *Aeromonas*, l'esquema més utilitzat és l'Aerokey II.¹³⁷

Per a l'aïllament de *Plesiomonas shigelloides* el medi més utilitzat és l'agar d'inositol, gelatina i verd brillant (IGB)¹³⁸ o l'agar MacConkey. La identificació d'espècies d'*Aeromonas* i *P. shigelloides* es pot dur a terme per micromètodes bioquímics.¹³⁹

9.3.3 Estudi virològic

A causa de la baixa càrrega vírica esperable en aliments contaminats, la detecció de virus en mostres d'aliments queda actualment restringida a les tècniques moleculars. Fins i tot així, la tasca és difícil i obliga a fer servir metodologies prèvies per a la concentració vírica i l'eliminació de substàncies inhibidores dels enzims utilitzats en les reaccions de retrotranscripció i amplificació. La detecció de virus en mostres de mol·luscs bivalves o d'aigua es pot dur a terme amb garanties, mentre que continua sent força aleatòria en altres tipus d'aliments. Malgrat això, s'està intentant posar a punt mètodes de RT-PCR a temps real per la detecció/quantificació de norovirus i virus de l'hepatitis A en diferents matrius alimentàries.^{140,141}

9.3.4 Estudi parasitològic

L'estudi parasitològic d'aigua i aliments comporta aplicar procediments que permetin la concentració, purificació i detecció dels paràsits. Habitualment aquests procediments s'apliquen a mostres d'aigua de les quals es vol investigar la contaminació, o amb les quals s'han sotmès a rentat els vegetals que se sospita que estan contaminats.¹⁴² Els mètodes de concentració que cal emprar depenen del tipus de mostra i de la quantitat de matèria orgànica i en suspensió que contingui. Les tècniques que més es fan servir són de sedimentació (per floculació o bifàsica), de filtració (amb filtres de membrana o de cartutx) o per centrifugació amb flux continu.¹⁴³ Els mètodes més utilitzats per a l'eliminació de bona part dels residus de la mostra són la separació per gradient de densitat amb sacarosa, clorur sòdic, sulfat de zinc, percoll, entre d'altres, o la separació immunomagnètica, que fa servir partícules magnètiques recobertes d'anticossos monoclonals específics d'antígens de les cobertes parasitàries. Finalment, la detecció dels paràsits es pot fer per microscòpia, immunofluorescència, ELISA, citometria de flux i PCR.

Bibliografia

1. Persing DH, Tenover FC, Versalovic J, Yang YW, Unger ER, Relman DA, et al., editors. *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*. Washington DC: ASM Press, 2004.
2. Truant AL, editor. *Manual of Commercial Methods in Clinical Microbiology*. Washington: AMS Press, 2002.
3. Mirelis Otero B, Sole Martínez R, Prats Pastor G. Infecciones intestinales. Diagnóstico etiológico. *Medicina Integral* 1998; 31: 244-248.
4. Voth DE, Ballard JD. *Clostridium difficile* toxins: mechanism of action and role in disease. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 247-263.
5. Thompson RB Jr., Miller JM. Specimen collection, transport and processing: Bacteriology. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 286-330.
6. Baron, E.J. Processing and interpretation of bacterial fecal cultures. A: Isenberg HD, editor. *Essential Procedures for Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM Press, 1998: 90-94.
7. Prats G. *Microbiología Clínica*. 1a ed. Madrid: Panamericana, 2005.
8. Besser J, Beebe J, Swaminathan B. Investigation of foodborne and waterborne disease outbreaks. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 162-181.
9. Nachamkin I, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2000.
10. Goossens H, De Boeck M, Coignau H, Vlaes L, Van den Borre C, Butzler JP. Modified selective medium for isolation of *Campylobacter* spp. from feces: comparison with Preston medium, a blood-free medium, and a filtration system. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 840-843.
11. Ratnam S, March SB, Ahmed R, Bezanson GS, Kasatiya S. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 2006-2012.
12. Thompson JS, Hodge DS, Borczyk AA. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of *Escherichia coli* serotype O157. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2165-2168.
13. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Guia per a la prevenció i el control de la infecció per *Escherichia coli* O157:H7 i altres *E. coli* verotoxígenes. Quaderns de Salut Pública núm. 15. 1a ed. Barcelona: Direcció General de Salut Pública, 2001. Disponible a: <www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/specoli.pdf> [consultat: 31 de juliol de 2005]
14. March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 869-872.

15. Zadik PM, Chapman PA, Siddons CA. Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol* 1993; 39: 155-158.
16. Dalton CB, Austin CC, Sobel J, Hayes PS, Bibb WF, Graves LM, et al. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N Engl J Med* 1997; 336: 100-105.
17. Crum NF. Update on *Listeria monocytogenes* infection. *Curr Gastroenterol Rep* 2002; 4: 287-296.
18. Schlech WF 3rd. Foodborne listeriosis. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 770-775.
19. Ooi ST, Lorber B. Gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1327-1332.
20. Wright DJ, Chapman PA, Siddons CA. Immunomagnetic separation as a sensitive method for isolating *Escherichia coli* O157 from food samples. *Epidemiol Infect* 1994; 113: 31-39.
21. Lucey B, O'Halloran F, Fanning S. Molecular-based identification and typing of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Methods Mol Biol* 2004; 268: 33-47.
22. Wang G, Clark CG, Taylor TM, Pucknell C, Barton C, Price L, et al. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4744-4747.
23. Pass MA, Odedra R, Batt RM. Multiplex PCRs for identification of *Escherichia coli* virulence genes. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2001-2004.
24. Watterworth L, Topp E, Schraft H, Leung KT. Multiplex PCR-DNA probe assay for the detection of pathogenic *Escherichia coli*. *J Microbiol Methods* 2005; 60: 93-105.
25. Paton AW, Paton JC. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 598-602.
26. Toma C, Lu Y, Higa N, Nakasone N, Chinen I, Baschkier A, et al. Multiplex PCR assay for identification of human diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2669-2671.
27. Bopp CA, Brenner FW, Fields PI, Wells JG, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover JC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 654-671.
28. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 142-201.
29. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 123-140.
30. Clarke SC. Diarrhoeagenic *Escherichia coli*—an emerging problem?. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 41: 93-98.

31. Tsai CC, Chen SY, Tsen HY. Screening the enteroaggregative *Escherichia coli* activity and detection of the *aggA*, *aafA*, and *astA* genes with novel PCR primers for the *Escherichia coli* isolates from diarrhea cases in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 46: 159-165.
32. Servin AL. Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 264-292.
33. Nataro JP. Enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 4-8.
34. Tamaki Y, Narimatsu H, Miyazato T, Nakasone N, Higa N, Toma C, et al. The relationship between O-antigens and pathogenic genes of diarrhea-associated *Escherichia coli*. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58: 65-69.
35. Park CH, Kim HJ, Hixon DL, Bubert A. Evaluation of the duopath verotoxin test for detection of shiga toxins in cultures of human stools. *J Clin Microbiol*. 2003 Jun; 41: 2650-2653.
36. Gavin PJ, Peterson LR, Pasquariello AC, Blackburn J, Hamming MG, Kuo KJ, et al. Evaluation of performance and potential clinical impact of ProSpecT Shiga toxin *Escherichia coli* microplate assay for detection of Shiga Toxin-producing *E. coli* in stool samples. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1652-1656.
37. Dediste A, Vandenberg O, Vlaes L, Ebraert A, Douat N, Bahwere P, et al. Evaluation of the ProSpecT microplate assay for detection of *Campylobacter*: a routine laboratory perspective. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 1085-1090.
38. Hindiyeh M, Jense S, Hohmann S, Benett H, Edwards C, Aldeen W, et al. Rapid detection of *Campylobacter jejuni* in stool specimens by an enzyme immunoassay and surveillance for *Campylobacter upsaliensis* in the greater Salt Lake City area. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3076-3079.
39. Maher M, Finnegan C, Collins E, Ward B, Carroll C, Cormican M. Evaluation of culture methods and a DNA probe-based PCR assay for detection of *Campylobacter* species in clinical specimens of feces. *J Clin Microbiol* 2003; Jul; 41: 2980-2986.
40. Holland JL, Louie L, Simor AE, Louie M. PCR detection of *Escherichia coli* O157:H7 directly from stools: evaluation of commercial extraction methods for purifying fecal DNA. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4108-4113.
41. Iijima Y, Asako NT, Aihara M, Hayashi K. Improvement in the detection rate of diarrhoeagenic bacteria in human stool specimens by a rapid real-time PCR assay. *J Med Microbiol* 2004; 53: 617-622.
42. Fukushima H, Tsunomori Y, Seki R. Duplex real-time SYBR green PCR assays for detection of 17 species of food or waterborne pathogens in stools. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5134-5146.
43. Bélanger SD, Boissinot M, Ménard C, Picard FJ, Bergeron MG. Rapid detection of Shiga toxin-producing bacteria in feces by multiplex PCR with molecular beacons on the Smart Cycler. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1436-1440.

44. Keramas G, Bang DD, Lund M, Madsen M, Bunkenborg H, Telleman P, et al. Use of culture, PCR analysis, and DNA microarrays for detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from chicken feces. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3985-3991.
45. McOrist AL, Jackson M, Bird AR. A comparison of five methods for extraction of bacterial DNA from human faecal samples. *J Microbiol Methods* 2002; 50: 131-139.
46. Malorny B, Tassios PT, Radström P, Cook N, Wagner M, Hoorfar J. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol* 2003; 83: 39-48.
47. Isenberg HD, editor. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington DC: ASM Press, 2001.
48. García LS. *Diagnostic Medical Parasitology*. 4a ed. Washinton DC: ASM Press, 2001.
49. García LS. *Parasitology. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover JC, editors. Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 1985-2113.
50. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for Confirmation of Foodborne-Disease Outbreaks. *MMWR Surveill Summ* 2000; 49 (SS01): 54-62. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss4901a3.htm> [consultat: 1 d'agost de 2005]
51. Midura TF, Bryant RG. Sampling plans, sample collection, shipment and preparation for analysis. A: Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 13-23.
52. Andrews WH, June GA. Food sampling and preparation of sample homogenate. A: US Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998:1.01-1.10.
53. International Organization for Standardization (ISO). *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*. Norma ISO 6887-1:1999.
54. Sperber WA, Morman MA, Freier TA. Cultural methods for the enrichment and isolation of microorganism. A: Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 45-50.
55. Feng P. Development and impact of rapid methods for detection of foodborne pathogens. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001:775-796.
56. Candish AAG. Immunological methods in food microbiology. *Food Microbiol* 1991; 8: 1-14.

57. Cox NA, Fung DYC, Bailey JS Hartman PA, Vasavada PC. Miniaturized kits, immunoassays, and DNA hybridization for recognition and identification of food-borne bacteria. *Diary Food Sanit* 1987; 7: 628-631.
58. US Food and Drug Administration (FDA). *Bacteriological Analytical Manual*. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998.
59. Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001.
60. Conniff P, editor. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17a ed. Gaithersburg: AOAC International, 1998.
61. International Organization for Standardization (ISO). *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of Salmonella spp.* Norma ISO 6579:2002.
62. Andrews WH, June GA, Sherrod PS, Hammack CS, Amaguana RM. *Salmonella*. A: US Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 5.01-5.20.
63. Andrews WH, Flowers RS, Silliker J, Bailey JS. *Salmonella*. A: Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 357-380.
64. Poelma PL, Romero A, Andrews WH. Comparative accuracy of five biochemical systems for identifying *Salmonella* and related foodborne bacteria: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 1978; 61: 1043-1049.
65. Popoff MY, Le Minor L. *Antigenic Formulas of the Salmonella serovars*. 8a ed. Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, 1997.
66. Flowers RS, Mozola MA, Curiale MS, Gabis DA, Silliker JH. Comparative study of DNA hybridization method and conventional culture procedure for detection of *Salmonella* in food. *J Food Sci* 1997; 52: 781.
67. Bailey JS. Detection of *Salmonella* cells within 24 to 26 hours in poultry samples with the polymerase chain reaction BAX system. *J Food Prot* 1998; 61: 792-795.
68. Stern NJ. Influence of season and storage on *Campylobacter* spp. contaminating broiler carcasses. *J Appl Poultry Res* 1995; 4: 235-238.
69. Hanninen ML, Korkeala H, Pakkala P. Effect of various gas atmospheres on the growth and survival of *Campylobacter jejuni* on beef. *J Appl Bacteriol* 1984; 57: 89-94.
70. International Organization for Standardization (ISO). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection of thermotolerant Campylobacter*. Norma ISO 10272:1995.
71. Hunt JM, Abeyta C, Tran T. *Campylobacter*. A: US Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 7.01-7.23.

72. Linton D, Owen RJ, Stanley J. Rapid identification by PCR of the genus *Campylobacter* and of five *Campylobacter* species enteropathogenic for man and animals. *Res Microbiol* 1996; 147(9): 707-718.
73. Lampel KA. *Shigella*. A: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 381-6.
74. Andrews WH, June GA, Sherrod PS. *Shigella*. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 6.01-6.06.
75. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection of *Shigella* spp. Norma ISO 21567:2004.
76. Lampel KA, Jagow JA, Trucksess M, Hill WE. Polymerase chain reaction for detection of invasive *Shigella flexneri* in food. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56: 1536-1540.
77. Hill WE, Datta AR, Feng P, Lampel KA, Payne WL. Identification of foodborne bacterial pathogens by gene probes. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 24.01-24.33.
78. Smith JL. *Shigella* as a foodborne pathogen. *J. Food Prot* 1987; 50: 788-801.
79. Hitchins AD, Feng P, Watkins W, Rippey S, Chandler L. *Escherichia coli* and the coliform bacteria. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 4.01-4.29.
80. Meng J, Doyle MP. Microbiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods. A: Kaper JB, O'Brien AD, editors. *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga Toxin-producing *E. coli* strains. Washington DC: ASM Press, 1998: 92-108.
81. Hill WE, Datta AR, Feng P, Lampel KA, Payne WL. Identification of foodborne bacterial pathogens by gene probes. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 24.01-24.33.
82. Meng J, Feng P, Doyle MP. Pathogenic *Escherichia coli*. A: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 331-342.
83. Deng MY, Cliver DO, Day SP, Fratamico PM. Enterotoxigenic *Escherichia coli* detected in foods by PCR and an enzyme-linked oligonucleotide probe. *Int J Food Microbiol* 1996; 30: 217-229.
84. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. Norma ISO 16654:2001.

85. Wright DJ, Chapman PA, Siddons CA. Immunomagnetic separation as a sensitive method for isolating *Escherichia coli* O157 from food samples. *Epidemiol Infect* 1994; 113: 31-9.
86. Fratamico PM, Sackitey SK, Wiedmann M, Deng MY. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2188-2191.
87. Johnson JL, Brooke CL, Fritschel SJ. Comparison of the BAX for screening/*E. coli* O157:H7 method with conventional methods for detection of extremely low levels of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 4390-4395.
88. Weagant SD, Feng P, Stanfield JT. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 8.01-8.11.
89. De Boer E, Seldam WM. Comparison of methods for the isolation of *Yersinia enterocolitica* from porcine tonsils and pork. *Int J Food Microbiol* 1987; 5:95-101.
90. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica*. Norma ISO 10273:2003.
91. Wauters G, Goossens V, Janssens M, Vandepitte J. New enrichment method for isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* serogroup O:3 from pork. *Appl Environ Microbiol* 1988; 54: 851-854.
92. Weagant SD, Feng P. *Yersinia*. A: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 421-428.
93. Aulisio CC, Mehlman IJ, Sanders AC. Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods. *Appl Environ Microbiol* 1980; 39: 135-140.
94. Sharma NK, Doyle PW, Gerbasi SA, Jessop JH. Identification of *Yersinia* species by the API 20E. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1443-1444.
95. Farmer JJ 3rd, Carter GP, Miller VL, Falkow S, Wachsmuth IK. Pyrazinamidase, CR-MOX agar, salicin fermentation-esculin hydrolysis, and D-xylose fermentation for identifying pathogenic serotypes of *Yersinia enterocolitica*. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2589-2594.
96. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. Norma ISO 6888-1:1999.
97. Bennett RW, Lancelette GA. *Staphylococcus aureus*. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 12.01-12.05.
98. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-

- positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium. Norma ISO 6888-2:1999.
99. Wieneke AA. Comparison of four kits for the detection of staphylococcal enterotoxin in foods from outbreaks of food poisoning. *Int J Food Microbiol* 1991; 14: 305-312.
 100. Bergdoll MS. Staphylococcal food poisoning. A: Cliver DO, ed. *Foodborne Diseases*. San Diego: Academic Press, 1990: 85-106.
 101. Harmon SM, Placencia AM. Method for maintaining viability of *Clostridium perfringens* in foods during shipment and storage: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 1978; 61: 785-788.
 102. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* - Colony count technique. Norma ISO 7937:2004.
 103. Rhodhamel EJ, Harmon SM. *Clostridium perfringens*. A: US Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 16.01-16.06.
 104. Fach P, Popoff MR. Detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in food and fecal samples with a duplex PCR and the slide latex agglutination test. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 4232-4236.
 105. Labbe RG. *Clostridium perfringens*. A: Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 421-428.
 106. Bennet RW, Belay N. *Bacillus cereus*. A: Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 311-316.
 107. Rhodhamel EJ, Harmon SM. *Bacillus cereus*. A: US Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 14.01-14.08.
 108. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* - Colony count technique at 30 degrees C. Norma ISO 7932:2004.
 109. Helgason E, Okstad OA, Caugant DA, Johansen HA, Fouet A, Mock M, et al. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* - one species on the basis of genetic evidence. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 2627-2630.
 110. Gianfranceschi M, Aureli P. Freezing and frozen storage on the survival of *Listeria monocytogenes* in different foods. *Ital J Food Sci* 1996; 8: 303-309.
 111. Ryser ET, Donnelly CW. *Listeria*. A: Downes FP, Ito K, editors. *Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods*. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 343-356.

112. Hitchins AD. *Listeria monocytogenes*. A: US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 10.01-10.13.
113. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 2: Enumeration method - Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data. Norma ISO 11290-2:1998/Amd 1: 2004.
114. Batt CA. Rapid methods for detection of *Listeria*. A: Ryser ET, Marth EH, editors. Listeriosis and Food Safety. 2a ed. Nova York: Marcel Dekker, 1999: 261-278.
115. Stewart D, Gendel SM. Specificity of the BAX polymerase chain reaction system for detection of the foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*. J AOAC Int 1998; 81: 817-822.
116. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Foodborne botulism-Illinois. MMWR Weekly 1984; 33: 22-3. Disponible a: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000265.htm> [consultat: 1 d'agost de 2005]
117. Solomon HM, Johnson EA, Bernard DT, Arnon SS, Ferreira JL. *Clostridium botulinum* and its toxins. A: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 317-324.
118. Solomon HM, Lilly T Jr. *Clostridium botulinum*. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 17.01-17.10.
119. Doellgast GJ, Triscott MX, Beard GA, Bottoms JD, Cheng T, Roh BH, et al. Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Clostridium botulinum* neurotoxins A, B, and E using signal amplification via enzyme-linked coagulation assay. J Clin Microbiol 1993; 31: 2402-2409.
120. Takeshi K, Fujinaga Y, Inoue K, Nakajima H, Oguma K, Ueno T, et al. Simple method for detection of *Clostridium botulinum* type A to F neurotoxin genes by polymerase chain reaction. Microbiol Immunol 1996; 40: 5-11.
121. Aranda E, Rodríguez MM, Asensio MA, Córdoba JJ. Detection of *Clostridium botulinum* types A, B, E and F in foods by PCR and DNA probe. Lett Appl Microbiol 1997; 25: 186-190.
122. Kaysner CA, DePaola A Jr. *Vibrio*. A: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 405-420.
123. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of pathogenic *Vibrio*. - Part 1: Detection of *Vibrio parahaemolyticus*. Norma ISO PRF TS 21872-1.
124. Elliot EL, Kaysner CA, Jackson L, Tamplin ML. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, and other *Vibrio* spp. A: US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8a ed (Rev. A). Gaithersburg: AOAC International, 1998: 9.01-9.27.

125. Overman TL, Kessler JF, Seabolt JP. Comparison of API 20E, API Rapid E, and API Rapid NFT for identification of members of the family *Vibrionaceae*. J Clin Microbiol 1985; 22: 778-781.
126. Seas C, Gotuzzo E. *Vibrio cholerae*. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadelfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2536-2544.
127. Pal A, Ramamurthy T, Bhadra RK, Takeda T, Shimada T, Takeda Y, et al. Reassessment of the prevalence of heat-stable enterotoxin (NAG-ST) among environmental *Vibrio cholerae* non-O1 strains isolated from Calcutta, India, by using a NAG-ST DNA probe. Appl Environ Microbiol 1992; 58: 2485-2489.
128. Fields PI, Popovic T, Wachsmuth K, Olsvik O. Use of polymerase chain reaction for detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 strains from the Latin American cholera epidemic. J Clin Microbiol 1992; 30: 2118-2121.
129. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* infections associated with eating raw oysters - Pacific Northwest, 1997. MMWR Weekly 1998; 47: 457-462. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00053377.htm> [consultat: 8 d'agost de 2005]
130. Hlady WG, Mullen RC, Hopkin RS. *Vibrio vulnificus* from raw oysters. Leading cause of reported deaths from foodborne illness in Florida. J Fla Med Assoc 1993; 80: 536-538.
131. Miyamoto Y, Kato T, Obara Y, Akiyama S, Takizawa K, Yamai S. In vitro haemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus*: its close correlation with human pathogenicity. J Bacteriol 1969; 100: 1147-1149.
132. McCarthy SA, DePaola A, Cook DW, Kaysner CA, Hill WE. Evaluation of alkaline phosphatase- and digoxigenin- labelled probes for detection of the thermolabile hemolysin (*tlh*) gene of *Vibrio parahaemolyticus*. Lett Appl Microbiol 1999; 28: 66-70.
133. Bej AK, Patterson DP, Brasher CW, Vickery MC, Jones DD, Kaysner CA. Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*. J Microbiol Methods 1999; 36: 215-225.
134. Palumbo SA, Maxino F, Williams AC, Buchanan RL, Thayer DW. Starch-ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. Appl Environ Microbiol 1985; 50: 1027-1030.
135. Palumbo SA, Stelma GN Jr, Abeyta, C. The *Aeromonas hydrophila* Group. A: Lund B, Baird-Parker T, Could G, editors. The Microbiological Safety and Quality of Food. Gaithersburg: Aspen Publishers; 2000:1011-1028.
136. Palumbo SA, Abeyta C, Stelma GN Jr, Wesley IW, Wei CI, Koburger SK, et al. *Aeromonas*, *Arcobacter*, and *Plesiomonas*. A: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001: 283-300.
137. Carnahan AM, Behram S, Joseph SW. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. J Clin Microbiol 1991; 29: 2843-2849.

138. Koburger JA. *Plesiomonas shigelloides*. A: Doyle MP, editor. Foodborne Bacterial Pathogens. Nova York: Marcel Dekker, 1989: 311–325.
139. Ogden ID, Millar IG, Wayt AJ, Wood L. A comparison of three identification kits for the confirmation of *Aeromonas* spp. Lett Appl Microbiol 1994; 18: 97-99.
140. Cliver DO. Foodborne viruses. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 501-511.
141. Downes FP, Ito K, editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods. 4a ed. Washington DC: APHA, 2001.
142. Robertson LJ, Gjerde B. Isolation and enumeration of *Giardia* cysts, *Cryptosporidium* oocysts, and eggs from fruits and vegetables. J Food Prot 2000; 63: 775-778.
143. Zarlenga DS, Trout JM. Concentrating, purifying and detecting waterborne parasites. Vet Parasitol 2004; 126: 195-217.

10. Mètodes epidemiològics per a l'estudi dels agents de toxiinfeccions alimentàries

La sospita d'un brot de toxiinfecció alimentària és conseqüència de l'aparició o l'increment de casos simultanis en el temps i/o en l'espai. La confirmació del caràcter epidèmic comporta un estudi de camp i la recollida de les soques obtingudes dels malalts i dels aliments possiblement implicats, per dur a terme al laboratori estudis epidemiològics que permetin demostrar la identitat dels microorganismes aïllats dels diferents pacients i aliments.¹

Després de la identificació de l'espècie del microorganisme i la determinació del seu caràcter patogen, la confirmació de la identitat de les soques es basa en la demostració que comparteixen algun caràcter comú que no comparteixen amb soques de la mateixa espècie no involucrades en el brot. La determinació de la identitat de les soques és important perquè permet confirmar el brot; però també permet detectar brots insospitats quan s'estudien sistemàticament soques obtingudes de casos endèmics aparentment no relacionats; permet diferenciar i descartar en un brot els casos esporàdics, no relacionats, que apareixen per casualitat simultàniament amb el brot i, finalment, permet detectar l'existència simultània i coincident de dos brots.

Els caràcters que permeten establir la identitat o la diferència entre les soques poden ser fenotípics o genotípics.

10.1 Tècniques fenotípiques

Els caràcters fenotípics més utilitzats per constatar la identitat o diferència entre soques d'una espècie, és a dir per tipar-les, són el biotip, el serotip, el fagotip i el bacteriocinotip.

El biotipat permet diferenciar els bacteris d'una espècie en biovarietats o biovars, en funció de diferències en el metabolisme, com la fermentació de sucres, la utilització de diferents substrats o la producció de determinats catabòlits.

Les diferències en els antígens de superfície, capsulars, de la paret i dels flagels permeten distingir entre diferents serovarietats (serogrups i serotips).

El fagotipat estudia la sensibilitat d'una soca a l'acció lítica de diferents bacteriòfags i el bacteriocinotipat, la susceptibilitat d'una soca a diferents bacteriocines, que són substàncies lítiques bactericides produïdes per determinats bacteris.

A la pràctica, aquestes proves tenen força limitacions ja que moltes vegades només es poden emprar per a un grup de microorganismes; així, el biotipat es pot utilitzar amb bacteris però no amb virus, i fins i tot tan sols per a una o unes poques espècies (per ex.: proves per al biotipat o fags per al fagotipat d'*Escherichia coli*). Les proves fenotípiques, en general, tenen poc caràcter discriminador o són poc reproduïbles, però òbviament es fan servir en absència d'altres de millors o com un primer nivell de tipat; per exemple, si dues soques de *Salmonella enterica* no pertanyen al mateix serotip és que són diferents i no cal prosseguir l'estudi; però si són del mateix serotip, aquest nivell de discriminació no permet establir la seva identitat en un brot i cal emprar marcadors addicionals.

La utilització actual d'aquestes proves és mínima i en general són com un cribratge per a la realització de tècniques genotípiques, més discriminants i reproduïbles.

10.2 Tècniques genotípiques

Les proves genotípiques que comparen el genoma dels microorganismes són més emprades que les fenotípiques. Permeten tipar tots els microorganismes, bacteris virus i protozous, i són força reproduïbles.^{2,3}

La prova més utilitzada en bacteriologia és el camp polsat (*pulsed field gel electrophoresis*, PFGE), que es pot aplicar pràcticament a tots els bacteris patògens. Requereix extreure i concentrar el DNA, tallar-lo amb enzims de restricció que reconeixen punts definits del DNA (breus seqüències de 4 a 10 nucleòtids) i constatar si els fragments formats entre els punts tallats són iguals en totes les soques o si són diferents. Un cop tallat el DNA se sotmet a una electroforesi en un gel sota l'acció dels pols d'un camp elèctric, cosa que permet separar i observar els diferents fragments formats de cada soca i comparar-los. Aquesta tècnica s'ha aplicat a tots els bacteris causants de toxiinfeccions alimentàries i se'n pot considerar el mètode de referència (*gold standard*).⁴

La capacitat de discriminació de la tècnica no és la mateixa per a tots els microorganismes, i per exemple per a alguns serotips de salmonel·la la discriminació no és l'adequada, fins i tot si es fan servir diversos enzims de restricció simultàniament (*SmaI*, *XbaI*, *AvrII*). Una altra limitació d'aquesta prova és que la seva realització completa dura entre quatre i sis dies.

La majoria dels bacteris enteropatògens també es poden tipar per altres tècniques genotípiques, com les que estudien les diferències (polimorfisme) de fragments de DNA amplificats utilitzant iniciadors (*primers*) dissenyats a l'atzar, i que per tant tenen seqüències arbitràries (*random amplified polymorphic DNA*), o la comparació de la longitud dels fragments de

DNA existents entre seqüències repetides del genoma (rep-PCR; *repetitive sequence based-PCR*).

La seqüenciació de 6 a 8 gens per bacteri i la comparació amb les seqüències d'altres soques (*multilocus sequence typing*, MLST) permet establir-ne la diferència o identitat. Aquesta és una tècnica llarga i entretinguda, però molt reproduïble i objectiva, ja que permet comparar seqüències obtingudes en diferents laboratoris i entrar-les en una base de dades universal. Encara que el serotipat ha estat una tècnica epidemiològica molt emprada per al tipat dels virus, actualment les tècniques genotípiques basades en l'estudi de les diferències de seqüència de fragments determinats dels àcids nucleics tenen una gran utilitat perquè no requereixen obtenir anti-sèrums i són discriminants i fàcils de realitzar. De vegades un virus es pot serotipar i, posteriorment, si és necessari, es pot subtipar per tècniques genètiques.

Les tècniques genètiques han obert un gran camp per al tipat de protozous, la qual cosa havia estat molt difícil utilitzant tècniques fenotípiques. Aquest camp és a les beceroles però té un futur molt esperançador.^{5,6}

Bibliografia

1. Rothman KJ, Greenland S. Modern Epidemiology. 2a ed. Filadèlfia: Lippincott Williams and Wilkins, 1998.
2. Persing DH, Tenover FC, Versalovic J, Yang YW, Unger ER, Relman DA, et al., editors. Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice. Washington DC: ASM Press, 2004.
3. Besser J, Beebe J, Swaminathan B. Investigation of foodborne and waterborne disease outbreaks. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003:162-181.
4. Soll DR, Lockhart SR, Pujol C. Laboratory of procedures for the epidemiological analysis of microorganisms. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 139-161.
5. Tibayrenc M. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. Int J Parasitol 1998; 28: 85-104.
6. Ajzenberg D, Dumetre A, Darde ML. Multiplex PCR for typing strains of *Toxoplasma gondii*. J Clin Microbiol 2005; 43: 1940-1943.

11. Altres patògens vehiculats per aliments

A més dels bacteris, virus i protozous que causen gastroenteritis i que han estat recollits a l'apartat 3, hi ha altres microorganismes patògens per a l'ésser humà, en el qual produeixen diferents processos patològics de caràcter sistèmic, també poden estar vehiculats per aliments. En aquest apartat s'assenyalen alguns dels més importants.

11.1 Bacteris

11.1.1 *Streptococ betahemolític*

L'estreptococ betahemolític del grup A (*Streptococcus pyogenes*) és un microorganisme que té com a hàbitat principal la faringe humana. El mecanisme de transmissió més freqüent és de persona a persona per via aèria, però ho poden ser els aliments. Arran de la pasteurització de la llet el nombre de brots ha disminuït, i la majoria s'han donat en institucions tancades com escoles i centres sanitaris.

Causa diferents malalties invasores com faringitis, impetigen, erisipela, limfangitis, cel·lulitis i sèpsia. També produeix malalties per l'alliberament de toxines com l'escarlatina, i d'altres de base immunitària com el xoc tòxic, la febre reumàtica (FR) i la glomerulonefritis aguda (GA). Les soques d'estreptococ es poden tipar sobre la base de les diferències de les proteïnes M i T. Alguns tipus han estat associats a una virulència superior (tipus M 1 i 3).¹

Reservori i font d'infecció

El microorganisme es troba a la faringe de persones de qualsevol edat, però la colonització és més freqüent entre els 5 i els 15 anys.

La contaminació dels aliments es pot fer per gotetes de saliva, però sobretot per contacte directe amb les mans contaminades amb secrecions respiratòries.

Diversos aliments, en particular aquells que requereixen una manipulació perllongada durant la preparació —com els ous, els crustacis, els sandvitxos i les amanides—, han estat involucrats en la transmissió d'aquest microorganisme i han causat preferentment escarlatina.^{2,3}

Pervivència als aliments

No es coneix amb precisió.

Patogènia

L'estreptococ del grup A és un dels patògens dotats de més factors de virulència. La càpsula i diverses proteïnes antifagocitàries faciliten les infec-

cions supurades (faringitis, infeccions cutànies), la toxina eritrogènica és responsable de l'escarlatina, i anticossos desencadenats pels antigens microbians donen lloc a reaccions encreuades amb els antigens dels teixits o formen complexos immunes; això explica la patogènia de les infeccions no supurades causades per aquest microorganisme (FR i GA).¹

Dosi infectant

No es coneix amb precisió.

La majoria de brots s'han donat en aliments mal conservats que han permès la multiplicació del microorganisme del qual se sospita que la dosi infectant és elevada.^{4,6}

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació oscil·la entre 36 i 52 hores, amb valors extrems d'entre 24 i 72 hores, i probablement està en relació inversa a la dosi infectant. Es consideren casos secundaris els que comencen després de 72 hores. La taxa d'atac és molt variable i oscil·la entre el 10 % i el 80 %.

La contaminació dels aliments és possible mentre la persona és portadora del microorganisme.^{4,6}

Manifestacions clíniques

La faringitis estreptocòccia és pultàcia, amb adenopaties satèl·lits cervicals, febre que pot ser alta i pot anar acompanyada d'estat estuporós. L'impetigen i l'erisipela en són dues infeccions cutànies característiques des del punt de vista clínic. L'escarlatina es manifesta per un exantema.

La febre reumàtica i la glomerulonefritis apareixen un temps després de la infecció faríngia o cutània amb un quadre clínic variable caracteritzat per astènia, febrícula o febre, i símptomes cardíacs i renals respectivament.^{1,8,9}

Diagnòstic microbiològic

El diagnòstic es fa per cultiu de l'exsudat faríngi o de la lesió cutània; aquest és eficient quan la lesió és supurada (faringitis, impetigen, etc.) però té un rendiment pobre en lesions invasores no supurades (erisipela i limfangitis).

El diagnòstic de l'escarlatina és fonamentalment clínic. El de la febre reumàtica i la glomerulonefritis aguda es pot sospitar per la clínica, però en tot cas cal confirmar-lo amb proves específiques. En aquests dos últims casos el títol d'antistreptolisines i anti-DNasa sol ser molt elevat i ajuda a establir el diagnòstic etiològic.¹

Tractament

El tractament es pot dur a terme amb penicil·lina, amoxicil·lina o un macròlid durant set a deu dies per evitar i/o eradicar l'estat portador. La taxa de casos secundaris és variable i difícil d'establir. En alguns àmbits ha estat

situada entre el 2 % i el 5 %, per la qual cosa no es recomana profilaxi, però en d'altres els casos apareguts 72 hores després del primer arriben a un quart o un terç del total.¹

11.1.2 Salmonel·les tifòdiques

La febre tifoide és una malaltia sistèmica, febril, sense focalització clínicament definida, causada pel serotip Typhi de *Salmonella enterica* que està adaptat estrictament a l'ésser humà.

S. enterica serotip Typhi és de distribució universal (16 milions de casos cada any), però la malaltia és més freqüent als països en vies de desenvolupament, ja que ha estat pràcticament eradicada a les zones urbanitzades dels països desenvolupats, on encara es produeixen, esporàdicament, petis brots d'origen alimentari.^{10,11}

Altres serotips menys freqüents de *S. enterica* adaptats a l'home, com Paratyphi A, B i C causen el paratífus, una malaltia semblant a la febre tifoide però més benigna. Entre les salmonel·les paratífiques, la B és la més freqüent, seguida de la A; la C és excepcional. En algunes zones del món, però, com a Xina i Pakistan, són més freqüents que la Typhi.^{10,12,13}

Reservori i font d'infecció

L'únic reservori és l'ésser humà, i el seu mecanisme de transmissió és la via fecal-oral.

S. enterica serotip Typhi es comença a eliminar per la femta a partir de la primera setmana de malaltia, durant tota la convalescència i un període variable posterior, que en el 10 % de les persones no tractades pot superar els tres mesos.

Algunes persones quedaran com a portadores cròniques asimptomàtiques durant més d'un any, perquè el microorganisme roman a la bufeta de la fel. L'estat de portador és més freqüent (2 % - 5 % dels casos) en persones d'edat mitjana, en particular dones amb anomalies a la bufeta (litiasi i d'altres).

Durant la malaltia i també al llarg d'un període posterior, el microorganisme es pot eliminar per l'orina i aquesta eliminació pot persistir en malalts amb esquistosomiosi, ja que el bacteri roman a la via urinària per les alteracions obstructives que provoca aquesta malaltia.

La transmissió es fa generalment a través d'aliments i aigua contaminada per la femta dels malalts i portadors. El marisc, en particular les ostres i els musclos, són un vehicle freqüent en àrees marines contaminades per emissions no depurades; però molts aliments com la fruita, els vegetals i les amanides crues també poden vehicular els microorganismes especialment si han estat regades i contaminades per aigües residuals o, amb més freqüència, si són manipulades a la cuina per persones portadores del microorganisme.⁴⁻⁷

L'establiment de l'estat de portador és menys freqüent a les febres paratífiques.⁶

Pervivència als aliments

S. enterica serotip Typhi roman viable fins a 10 dies a 4 °C en diferents aliments i s'inhibeix a pH inferior a 4, encara que en aliments amb elevada salinitat (al voltant del 2%) incrementa la seva pervivència. En aliments amb una activitat d'aigua de 0,93 roman viable durant 3 dies. És possible que en determinats aliments de pH neutre i entre 6 °C i 15 °C la pervivència sigui superior a dues setmanes.

Patogènia

Les salmonel·les tifoparatífiques travessen la mucosa intestinal, es multipliquen als limfàtics regionals (plaques de Peyer) i passen a la sang, on estableixen una bacterièmia persistent, es distribueixen per l'organisme, en particular als òrgans rics en teixit reticuloendotelial com els ganglis limfàtics, la melsa i el moll de l'os, i són eliminades per l'orina. També es localitzen al budell i a la bufeta de la fel, on poden romandre i des d'on són excretades i eliminades amb la femta.¹⁴

Dosi infectant

L'inòcul necessari per produir la febre tifoide varia segons la receptivitat de l'hoste, però en general es baix, inferior a 10^3 microorganismes. Els infants hi són més susceptibles. Quan la salmonel·la es transmet per l'aigua la càrrega bacteriana sol ser més baixa que pels aliments, per la qual cosa el període d'incubació acostuma a ser més llarg i la taxa d'atac inferior a quan la malaltia es transmet pels aliments.^{1,4,5}

L'inòcul de les salmonel·les paratífiques necessari per produir la malaltia és superior al del serotip Typhi.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació de la febre tifoide depèn de l'inòcul i de l'hoste. Pot oscil·lar entre 3 i 60 dies, amb uns valors mitjans situats entre els 7 i els 14 dies.

El període de transmissibilitat dura mentre el microorganisme és excretat per la femta (i l'orina), és a dir, durant la malaltia i el període de convalescència (1-2 setmanes). Un 10 % de les persones malaltes no tractades eliminen el microorganisme durant 3 mesos després de la curació, i entre el 2 % i el 5 % esdevenen portadors crònics.^{4,7}

Manifestacions clíniques

Les manifestacions clíniques de la febre tifoide són d'aparició progressiva i es caracteritzen per febre persistent, mal de cap, astènia, anorèxia i bra-

dicàrdia relativa. Es pot observar llengua seca, torrada, exantema evanescent al tronc i esplenomegàlia. Hi acostuma a haver leucopènia, anèmia i signes biològics de coagulació intravascular. De vegades la síndrome és catalogada com a febre d'origen desconegut. En les formes greus hi ha deshidratació important i estupor (tifus, coma vigil). Al voltant de la tercera setmana es pot complicar amb hemorràgia intestinal o/i perforació (en el 3 % - 10 % de persones malaltes no tractades).^{1,15}

La letalitat en casos sense tractament és del 10 % - 20 %, però amb tractament adient és inferior a l'1 %.¹

El quadre clínic del paratífus és semblant a la febre tifoide, però més benigne.

Diagnòstic de laboratori

El diagnòstic es fa per hemocultiu o cultiu d'altre material obtingut d'un territori estèril (orina, líquid articular, pleural, etc.) amb un valor definitiu. S'ha suggerit que és l'única malaltia bacteriana sistèmica en la qual el cultiu de moll de l'os té més sensibilitat que l'hemocultiu.¹¹

El cultiu de femta positiu juntament amb un quadre clínic característic és molt suggeridor però no té valor de diagnòstic incontrovertible, ja que es podria tractar d'un portador crònic amb una altra malaltia febril.

La serologia, llevat d'ocasions excepcionals, no té valor diagnòstic.

Tractament

La malaltia causada per soques sensibles respon al tractament amb fluoroquinolones, cefalosporines de tercera generació, cotrimoxazole, ampicil·lina i cloranfenicol. Hi ha, però, soques resistents. Les soques resistents a àcid nalidíxic però sensibles a fluoroquinolones no s'han de tractar amb fluoroquinolones. En malalts molt estuporosos o xocats pot estar indicada l'administració de corticoides.

Quan cal eradicar l'estat de portador, en els nens s'han de administrar dosis altes d'ampicil·lina i en els adults fluoroquinolones (en soques sensibles a l'àcid nalidíxic). Cal valorar la necessitat d'indicar una colecistectomia.¹⁰

La vacunació només està indicada en persones que viatgen a països d'alta endèmia o que treballen regularment al laboratori amb soques de la serovar Typhi. Es pot emprar la vacuna atenuada oral Ty21a o la parenteral elaborada amb el polisacàrid Vi. Hi ha una preparació Vi conjugada no comercialitzada.¹⁶

11.1.3 Brucel·la

Les brucel·les causen una zoonosi que afecta diversos animals, particularment les cabanes ovina, caprina i bovina. La brucel·losi pot afectar l'ésser humà, en el qual es manifesta com una malaltia sistèmica febril, cone-

guda al nostre medi com “febre de Malta”, però com que habitualment no presenta focalitat, inicialment pot ser catalogada com una febre d'origen desconegut. La malaltia humana està causada principalment per dues espècies, *Brucella melitensis* i *B. abortus*, de les quals la primera és la més freqüent al nostre medi. Les infeccions humanes per *B. suis* i *B. canis* són excepcionals.^{17,18}

Reservori i font d'infecció

B. melitensis infecta principalment les ovelles i les cabres, *B. abortus* el vaquí, *B. suis* infecta els suïds domèstics i salvatges, i *B. canis* els gosos, que constitueixen el seu principal reservori respectiu.

En els ramaders, els veterinaris i accidentalment en altres persones, la infecció es produeix a través de petites lesions a les mans quan es toca o es manipula llet, orina, secrecions vaginals, fetus i particularment placentes d'animals infectats. També s'han descrit infeccions per inhalació als escorxadors. La brucel·losi és una de les infeccions més freqüents entre les adquirides al laboratori.

La transmissió a la població general es produeix habitualment per consum de llet o derivats làctics frescos, no pasteuritzats.^{5,6,17,18}

Pervivència als aliments

La pervivència als aliments, generalment als làctics, depèn de l'activitat de l'aigua. El temps de viabilitat pot variar de cinc dies a l'aigua de consum fins a mesos en derivats làctics.

Patogènia

Encara que la malaltia es pot adquirir per via percutània o per inhalació, la forma d'adquisició més freqüent entre la població general és mitjançant la via digestiva.

El microorganisme travessa el budell, es multiplica als limfàtics regionals i passa a la sang, on fa una bacterièmia persistent amb localització als òrgans rics en cèl·lules del sistema reticulendotelial (SRE). El microorganisme també es pot localitzar secundàriament als ossos, les meninges i causar endocarditis.¹⁸

Una característica d'aquests microorganismes és la seva capacitat per romandre latents durant molt temps, probablement en cèl·lules del SRE, de manera que un cop curada clínicament una infecció es pot reactivar anys després.

Dosi infectant

La dosi infectant de les brucel·les depèn de la via d'administració; per la via inhalatòria i conjuntival la dosi és relativament baixa, al voltant de 10^3 microorganismes, però per obtenir infeccions experimentals en els animals s'administren per via oral amb el pinso fins a 10^{10} microorganismes.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació és variable i difícil de precisar, però es considera que pot oscil·lar entre 5 i 60 dies, encara que el ventall per a la majoria de casos se situa entre 30 i 50 dies. Ocasionalment s'han descrit casos de diversos mesos d'incubació.^{5,6}

La transmissió es produeix dels animals malalts a l'home pels vehicles assenyalats, però no s'ha descrit la transmissió de persona a persona.¹⁷

Manifestacions clíniques

La brucel·losi s'inicia insidiosament amb astènia, artromiàlgies i febrícula, i clàssicament s'assenyala la presència de sudoració nocturna. Aquest quadre clínic pot evolucionar de manera molt variable, amb afectació més o menys intensa que es pot perllongar molt temps amb una febre de caràcter ondulant, fins que es consulta i es diagnostica. L'esplenomegàlia n'és un signe característic.

Quan s'afecten els ossos, es tracta sovint de les articulacions sacroilíiques i les vèrtebres. Si s'afecten les meninges o les vàlvules cardíaques apareixen els símptomes corresponents.

Les recaigudes en els casos no tractats són freqüents, i també en alguns casos tractats; la seva freqüència està en relació, entre altres factors, amb l'espècie i l'antibioticoteràpia administrada. *B. melitensis* origina quadres més greus que les altres espècies, i requereix tractament associat i de duració adequada.¹⁸

La letalitat en les persones malaltes no tractades és del 2 %, i la majoria correspon a casos d'endocarditis.

Diagnòstic microbiològic

La malaltia es caracteritza per febre, esplenomegàlia i altres signes poc específics, fet pel qual és molt important precisar els antecedents epidemiològics. Encara que hi pot haver leucopènia, l'hemograma i els estudis bioquímics acostumen a ser anodins, però la VSG és accelerada.

El diagnòstic en l'ésser humà es fa per hemocultiu o cultiu de mostres dels territoris infectats (pus, LCR, etc.). Els cultius inicials, inclòs l'hemocultiu, s'acostumen a positivitar entre 5 i 20 dies després de la sembra. S'han de manipular al laboratori amb les precaucions adequades.

La serologia per *B. melitensis* i *B. abortus* és molt específica i força sensible amb vista a diagnosticar la infecció. Proves d'aglutinació, com la de Rosa de Bengala (aglutinació en porta), o la immunocromatografia són sensibles i fàcils de realitzar. Altres tècniques com l'ELISA i la prova de Coombs permeten detectar IgM específiques i anticossos incomplets respectivament. Generalment quan apareixen els símptomes la serologia ja és positiva. Les proves serològiques, però, moltes vegades no permeten diferen-

ciar la infecció latent de la malaltia activa, cosa que, atesa la persistència del microorganisme i l'existència d'infeccions paucisimptomàtiques a les zones endèmiques, constitueix un problema important.¹⁸

Tractament

El tractament antibiòtic de les formes no complicades es fa amb tetraciclins (doxiciclina), rifampicina o cotrimoxazole durant sis setmanes, amb gentamicina associada durant les tres primeres setmanes. No hi ha cap vacuna per a l'ésser humà.¹⁸

11.1.4 Listèria

Listeria monocytogenes és un bacil grampositiu, d'aspecte regular, aerobi i anaerobi facultatiu, amb una temperatura òptima de creixement d'entre 30 °C i 37 °C, però pot créixer entre 4 °C i 50 °C. Es troba àmpliament difós a la natura i causa infecció a l'ésser humà, particularment a persones immunodeprimides; les dones embarassades també són susceptibles de patir listeriosi, i el fetus i el nadó poden contraure la infecció.

Mes del 98% de les infeccions estan causades per soques dels serotips 1/2a, 1/2b i 4b; aquestes soques patògenes produeixen hemolisina (listeriolisina O).¹⁹⁻²²

Reservori i font d'infecció

Aquest microorganisme es troba àmpliament distribuït a la natura, a les aigües, la terra, la vegetació, el farratge, els pinsos, i també al tub digestiu de molts animals, inclosos els mamífers, les aus i probablement els peixos.⁴⁶ També l'ésser humà pot actuar com a reservori: n'és portador intestinal fins al 10% de la població.

Les listèries es poden multiplicar a temperatura de refrigeració i a temperatura ambient als aliments. També es multiplica en els formatges tous durant la seva maduració.

La infecció humana es produeix pel consum d'aliments contaminats, com la llet, cremes, formatges, patés i carns de tota mena, i els vegetals crus.^{47,23}

Les dones infectades poden transmetre el microorganisme al fetus per via transplacentària, o al nadó per via vaginal durant el part. S'han descrit brots de listeriosi neonatal en nurseries a través de la transmissió per contacte amb equipament contaminat.⁶

Pervivència als aliments

Aquest microorganisme es pot multiplicar en diferents aliments a temperatures de refrigeració.

La seva capacitat de resistència a la calor i al fred, i la pervivència en el medi ambient són molt elevades i sorprenents per a un bacteri no esporulat.^{4,19}

Patogènia

Encara que no se'n coneix amb precisió el mecanisme patogènic, s'hi troben involucrats diferents factors. El més important és probablement l'hemolisi. La listèria després de la ingesta travessa el tub digestiu i passa a la sang. S'ha considerat un microorganisme capaç de resistir la fagocitosi dels macròfags no activats, els quals requereixen l'estimulació dels limfòcits T CD4 per poder destruir les listèries fagocitades.²⁰ En les persones malaltes amb sida, però, no sembla que hagi estat un microorganisme aïllat gaire sovint. Fa poc s'ha confirmat el seu potencial enteropatogen (apartat 3.1.6).

Dosi infectant

En l'ésser humà la infecció asimptomàtica és la regla. Les infeccions sistèmiques estan relacionades amb un factor de susceptibilitat personal (immunodeficiència, embaràs) i amb la dosi ingerida del microorganisme.⁵ Probablement aquesta ha de ser elevada per produir la malaltia en persones sanes, però en persones immunodeprimides es considera que 1.000 microorganismes poden ser suficients per produir malaltia.^{4-7,24}

Període d'incubació i transmissibilitat

Encara que el temps d'incubació mitjà és d'unes tres setmanes, de fet és molt variable i pot oscil·lar entre 3 i 70 dies.

L'eliminació fecal per part d'una persona colonitzada, és a dir, l'estat de portador asimptomàtic, pot durar diversos mesos.

Les embarassades infectades —en les quals és freqüent la colonització vaginal— acostumen a eliminar el microorganisme per la vagina fins a 7 a 10 dies després del part.^{4-7,23}

Manifestacions clíniques

La infecció en la persona adulta cursa habitualment de forma asimptomàtica. Aquesta forma només és important en l'embarassada, perquè pot causar infecció neonatal durant el part. En ocasions apareix un quadre pseudogripal, autolimitat o precedint formes clíniques més greus. En persones susceptibles, com cirròtics, malalts amb neoplàsies, diabètics o altres persones immunodeprimides, la listèria generalment causa meningitis i bacterièmia, de vegades simultàniament, i dóna signes de meningitis bacteriana i sèpsia.²⁰

Per via transplacentària pot produir una infecció molt greu al fetus, amb afectació i formació de granulomes a tots els òrgans, i avortament. En nadons infectats durant el part per una mare asimptomàtica es pot produir meningitis i sèpsia neonatal.

La gastroenteritis és una forma clínica que pot precedir-ne d'altres més greus o constituir l'únic perfil clínic causat pel microorganisme.^{25,26}

Diagnòstic de laboratori

El diagnòstic es fa per hemocultiu en la bacterièmia i per examen directe i cultiu de LCR en les meningitis. La detecció del microorganisme mitjançant les tècniques d'amplificació genètica, com la PCR i d'altres es útil en la meningitis. Les enteritis es diagnostiquen per coprocultiu.

Tractament

El tractament s'ha de fer amb ampicil·lina associada o no a un aminoglicòsid.²⁰

11.2 Virus

11.2.1. Virus de l'hepatitis A

El virus de l'hepatitis A (VHA) és el prototip del gènere *Hepatovirus*, dins de la família *Picornaviridae*. El virió, nu i icosaèdric, conté un genoma de RNA monocatenari de polaritat positiva de 7,4 Kb, amb una sola ORF.²⁷

Hi ha un únic serotip del virus de l'hepatitis A, encara que darrerament s'han descrit variants antigèniques que s'escapen al reconeixement d'alguns anticossos monoclonals.²⁸ Cal tenir present que a causa de la manca d'activitat correctora de la seva polimerasa, el genoma del virus s'estructura en un espectre de mutants o quasiespècies.²⁹ Sota aquesta premissa, és fàcil entendre l'aparició potencial de variants antigèniques quan hi ha una pressió selectiva, com poden ser les vacunes, que s'administren des de mitjan anys noranta.

Es tracta d'una malaltia de distribució universal, si bé es poden reconèixer diferents àrees segons els nivells d'endemicitat. A les àrees d'elevada endemicitat la infecció es contrau a les primeres edats, els adults ja hi estan immunitzats i les epidèmies són poc freqüents. A mesura que milloren les condicions de sanejament, les persones adultes són més susceptibles i augmenten els brots.

Als països desenvolupats, on la infecció es presenta en edats més avançades, es poden ocasionar brots associats al consum d'aliments contaminats, si bé ateses les característiques epidemiològiques de la malaltia aquests són difícils de detectar. A causa dels importants brots descrits per consum de marisc, fruits tipus baia i enciams,²⁸ s'està discutint al si de la Unió Europea la conveniència de controlar la presència del VHA en aliments de risc.

La màxima incidència de la malaltia es produeix a la tardor o al començament de l'hivern, encara que als països tropicals les variacions estacionals són menors. Els viatges a països endèmics fan que als països desenvolupats sigui més difícil observar l'estacionalitat.

Reservori i font d'infecció

L'únic reservori i font d'infecció important és humà; s'han detectat anticossos contra el VHA en ximpanzés, goril·les, orangutans i altres micos, però no és clar si aquests animals podrien ser autèntics reservoris de la malaltia o només hostes transitoris que s'han exposat a fonts humanes.³⁰

La transmissió del VHA es produeix essencialment per la via fecal-oral, malgrat que també és adquirit per administració de sang o hemoderivats contaminats. La saliva i l'orina tenen poca o nul·la infectivitat. El mecanisme de transmissió per contacte directe de persona a persona és molt important.

La contaminació fecal d'un aliment es produeix quan aquest és manipulat per una persona infectada que no practiqui una higiene de mans acurada. Aquesta contaminació es pot produir en qualsevol moment abans del consum, i només es pot evitar amb la higiene del manipulador. Els aliments que no necessiten cocció i requereixen una manipulació important, com els entrepans i les amanides, són els més freqüentment associats a brots. Cal destacar el marisc cultivat en zones contaminades com a aliment de risc.

Pervivència als aliments

El VHA és excepcionalment estable. És resistent a l'èter, estable a pH 3 i relativament resistent a la inactivació per calor. Manté la seva integritat física i la seva activitat biològica a 60 °C durant 10 hores, però s'inactiva a 85 °C durant 1 minut.³⁰ S'inactiva per radiacions ultraviolades i per clor a una concentració d'1 mg/l durant 30 minuts. És molt estable al medi ambient (de 3 a 10 setmanes a l'aigua).

L'inòcul excretat amb la femta és molt alt (superior a 10⁸ unitats infectants per mil·lilitre).

Patogènia

La infecció comença amb la ingesta del virus —possiblement però no necessàriament— amb aliments o aigua.

Sembla raonable suposar que el primer punt de la infecció siguin els intestins, però això no s'ha pogut demostrar. El virus arriba al fetge i infecta les cèl·lules parenquimatoses. La replicació del VHA no ocasiona la mort de les cèl·lules hepàtiques, els virus drenen en la bilis cap als budells, des d'on s'eliminen amb la femta. S'han postulat mecanismes immunitaris per explicar la patogènesi de la malaltia.

La lesió de l'hepatòcit es produiria per una resposta immunitària cel·lular, i els anticossos circulants tindrien un paper més important per limitar la transmissió del virus cap a cèl·lules no infectades o cap a altres òrgans.³⁰

Encara que coincideixen en el temps la lesió hepàtica i la detecció d'anti-

cossos, no s'ha pogut demostrar que la patologia sigui deguda a la presència dels anticossos esmentats.

La destrucció dels hepatòcits pot comportar alteracions de gravetat variable.³¹

Dosi infectant i població susceptible

Unes mil partícules virals ja poden produir la malaltia.

Es poden transferir amb summa facilitat des dels dits contaminats amb femta fins als aliments.³² En consumir aquests aliments s'adquiriran les infeccions.

La susceptibilitat és general, si bé cal tenir en compte que en nens petits les infeccions subclíniques i anictèriques són molt més freqüents. Les persones infectades, i presumiblement també les vacunades, adquireixen una immunitat que les protegeix tota la vida enfront de noves infeccions.

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació pot variar entre 15 i 50 dies; el més freqüent és entre 28 i 30 dies.

La transmissibilitat és màxima durant la darrera meitat del període d'incubació, i continua durant alguns dies després que hagi començat la icterícia (o durant el pic de l'activitat de transaminases en els casos anictèrics).

La majoria de casos deixen de ser infecciosos després de la primera setmana d'icterícia, però en els nens i nenes es pot perllongar fins a sis mesos.

Manifestacions clíniques

La malaltia, si es presenta, apareix de 15 a 50 dies després de la ingesta del virus.

Els símptomes inclouen febre, anorèxia, nàusees i malestar abdominal, que acostumen a seguir acompanyats d'icterícia. En infants menors de cinc anys les infeccions asimptomàtiques o amb símptomes molt lleus són les més freqüents.

En adults també hi pot haver infeccions asimptomàtiques, però són més rares.

El risc de complicacions augmenta amb l'edat. Encara que la majoria dels casos són benignes i no es cronifiquen, en un 8 % - 10 % la malaltia es pot reactivar després de la fase aguda i es poden produir complicacions extrahepàtiques com vasculitis, crioglobulinèmia i artritis. També poden produir-se hepatitis fulminants.

La letalitat global s'estima que és del 0,3 %, però el 70 % de les defuncions corresponen a persones de més de 70 anys.³¹

Diagnòstic de laboratori

Es disposa de tests comercials per detectar IgG i IgM.

L'IgM està present a l'inici de la malaltia i habitualment desapareix quatre mesos després, però es pot prolongar fins a sis mesos. L'IgG és detectable de seguida després que apareix l'IgM.

La prevalença d'anti-VHA total sense IgM indica infecció passada o vacunació.

La caracterització del virus es realitza per tècniques moleculars, en sèrum o femta, i se'n poden detectar set genotips diferents; les soques humanes corresponen als genotips I, II, III, i VII.

Tractament

És tractament de suport. No hi ha tractament específic.

11.2.2 Virus de l'hepatitis E

El virus de l'hepatitis E (VHE) és també causant d'una hepatitis de transmissió fecal-oral. Constitueix el gènere *Hepevirus*, dins de la família *Hepeviridae*. Fins fa molt poc estava inclòs dins de la família *Caliciviridae*, però diferències en l'estructura del seu genoma han portat a la creació d'una nova família per ubicar-lo.³³ Es tracta de partícules icosaèdriques nues de 30 a 34 nm, amb un genoma de RNA monocatenari de polaritat positiva d'uns 7,5 Kb, que conté tres ORF.³⁴

Els últims anys la disponibilitat de proves serològiques per detectar anticossos VHE tipus IgM i IgG ha permès conèixer que la prevalença en regions endèmiques és del 3 % al 26 % i de l'1 % al 3 % en àrees no endèmiques. En àrees altament endèmiques suposen més del 50 % dels casos esporàdics d'hepatitis.

S'han descrit diversos brots d'hepatitis E associats a consum d'aigua contaminada en països en vies de desenvolupament. Recentment hi ha hagut una epidèmia al Sudan amb prop de 7.000 casos i 87 morts. En el món occidental apareixen casos esporàdics, normalment associats a visites a zones endèmiques com el sud-est i el centre d'Àsia, Àfrica i Mèxic.

En algunes zones endèmiques (Nepal, Xina o Índia) les màximes incidències de la infecció es produeixen a l'estació humida, però en altres llocs no s'ha observat cap variació estacional.

Reservori i font d'infecció

L'home és el reservori natural del virus. Alguns primats no humans com el ximpanzé, el mico verd africà i d'altres s'han descrit com a susceptibles a la infecció per soques humanes. S'han descrit infeccions naturals en porcs, pollastres i bòvids.

La infecció es contrau per ingesta d'aigua o aliments contaminats. La transmissió persona-persona és menys freqüent que en l'hepatitis A.

Pervivència als aliments

No es coneixen les condicions apropiades per a la inactivació del virus E a l'aigua i als aliments.

En general es considera un virus més làbil que el virus de l'hepatitis A.³⁵

Patogènia

En animals d'experimentació s'han observat canvis ultraestructurals al fetge, com infiltració limfocitària al voltant d'una àrea necròtica i engruïment de les mitocondries. No se sap si aquests canvis reflecteixen dany citopàtic o si són provocats per mecanismes immunitaris.

L'hepatitis colestàtica es troba sovint. La falta d'associació temporal entre la replicació viral al fetge i l'evidència d'hepatitis histopatològica i bioquímica suggereix que el virus de l'hepatitis E no és citopatogènic i que la patogènesi està mediada immunològicament, però aquests fets no es coneixen bé.³⁶

Dosi infectant i població susceptible

La dosi infectant es desconeix.

La susceptibilitat és desconeguda. Se sap que aproximadament el 50% de les infeccions poden ser anictèriques i que la freqüència de les formes ictèriques augmenta amb l'edat.

Les dones que es troben en el tercer mes d'embaràs són especialment susceptibles a les formes fulminants.

Es presenten grans epidèmies en adults joves en zones en què altres virus entèrics són endèmics sense que se sàpiga per què passa això.³⁷

Període d'incubació i transmissibilitat

El període d'incubació oscil·la entre 15 i 64 dies. En diverses epidèmies el període d'incubació mitjà s'ha situat entre 26 i 42 dies.

El període de transmissibilitat no és ben conegut. S'ha detectat a la femta des de 14 dies després de l'inici de la icterícia fins a aproximadament 4 setmanes després de la ingesta d'aigua o aliments contaminats. La detecció del virus persisteix durant aproximadament dues setmanes.

Manifestacions clíniques

L'hepatitis E no es pot diferenciar d'altres hepatitis víriques per la clínica. La gravetat de la malaltia és molt variable: des de formes no aparents fins a formes fulminants.

Els símptomes més freqüents són dolor abdominal, nàusees, vòmits i febre.

L'hepatitis E mai no progressa cap a la cronicitat, però l'IgM pot persistir durant mesos. De manera diferent al que passa amb l'hepatitis A, l'hepatitis recurrent precoç és poc freqüent.³⁶

La letalitat és similar a la de l'hepatitis A, excepte en les embarassades, que pot arribar a ser del 20% si la infecció té lloc durant el tercer mes de l'embaràs.

Diagnòstic de laboratori

El diagnòstic es fa per presència d'IgM anti-VHE. L'RNA del virus es pot detectar per PCR prèvia transcripció reversa en la femta a la fase aguda en el 50% dels casos.

Es considera que cal practicar aquestes proves quan hi ha icterícia o increment de les transaminases en persones que tinguin antecedents epidemiològics compatibles, i quan les proves diagnòstiques per altres virus de l'hepatitis (VHA, VHB i VHC) hagin estat negatives.

La caracterització del virus es fa per tècniques moleculars.

Tractament

El tractament és de suport.

11.3 Paràsits

11.3.1 Toxoplasma

La toxoplasmosi, causada per *Toxoplasma gondii*, és una zoonosi que presenta una alta prevalença entre la població humana i animal com a conseqüència del cicle biològic del paràsit, que comporta l'existència de diverses vies de transmissió.³⁸ Es tracta d'un paràsit intracel·lular, que envaeix i destrueix qualsevol cèl·lula nucleada de l'organisme i produeix infeccions habitualment asimptomàtiques o de patologia discreta, però d'especial importància en persones malaltes immunodeficients o quan la infecció és congènita.

Cicle biològic, reservori i font d'infecció

La forma completa del cicle³⁸ inclou una fase de multiplicació sexual a l'epiteli intestinal del gat, el qual elimina oocists per la femta, una multiplicació esporogònica dins d'aquests oocists en el medi extern i una multiplicació asexual en diferents tipus de cèl·lules de mamífers i aus. La infecció en l'ésser humà pot arribar per carnivorisme, en ingerir carn poc cuita d'animals parasitats, i per fecalisme per contaminació d'aigua i aliments (fruites, verdures) per femta de gats parasitats. Es considera que un gat pot eliminar per la femta més de cent milions d'oocists.

Els zoïts presents en els quists tissulars i els esporozoïts penetren la mucosa intestinal i són fagocitats per cèl·lules macrofàgiques, on es multipliquen i d'aquí es disseminen per la sang o la limfa a qualsevol territori orgànic. Durant aquesta fase es produeix una multiplicació ràpida del paràsit (producció de taquizoïts) que envaeix qualsevol tipus de cèl·lula.

Més endavant la reproducció es ralenteix (producció de bradizoïts) i es formen els anomenats quists tissulars, fonamentalment en el teixit de la musculatura esquelètica, cerebral i miocardi, on es produeix un gran nombre de bradizoïts.

La infecció per *Toxoplasma* en els animals de consum (conills, ovelles, porcs, vedelles) és molt variable i obeeix a factors geogràfics, el règim de cria i el tipus i les condicions sanitàries de l'explotació, entre d'altres.

Diverses enquestes seroepidemiològiques realitzades a Espanya sobre la prevalença de la infecció en animals de consum donen resultats molt variables, però en molts casos la seropositivitat supera el 50 % de la mostra.

També es pot transmetre a través de llet no pasteuritzada d'animals en la fase aguda de la malaltia. S'ha d'esmentar també la transmissió congènita que dona lloc a algunes de les formes més greus de la malaltia, i també per transfusió de sang i trasplantaments d'òrgans.

La infecció es considera que afecta un terç de la població mundial, amb un repartiment molt diferent arreu, d'acord amb les peculiaritats socioculturals de la població. A Europa afecta probablement la meitat de la població. Es pot trobar revisions completes sobre l'epidemiologia de la toxoplasmosi a les referències bibliogràfiques.^{39,40}

Pervivència als aliments

Els quists musculars en animals vius resten viables durant molt temps. A les carcasses resisteixen aproximadament el mateix temps que la carn es manté acceptable per al consum. Resisteixen fins a tres setmanes en carn refrigerada (1 °C - 4 °C) i fins a una setmana en congelacions lleugeres (de -1 °C a -8 °C). La congelació de la carn a -14 °C els destrueix en poques hores. Tenen una notable resistència al calor i necessiten que la temperatura arribi als 67 °C durant uns 10 minuts per garantir la seva destrucció. També són molt resistents a l'adobat i les salaons lleugeres (<6% de ClNa). La resistència dels oocists a l'aigua, en fruites i verdures és molt gran, sobretot a temperatures baixes. En ambients humits poden romandre viables més de 18 mesos.

Patogènia

La patogènia de la toxoplasmosi és conseqüència de la destrucció cel·lular que produeix el paràsit en la seva multiplicació intracel·lular, i del dany tissular associat a la resposta immune de l'hoste.

Dosi infectant

L'elevat nombre de trofozoïts presents en un sol quist muscular de *Toxoplasma* fa que la ingesta de qualsevol nombre de cists viables pugui derivar en una infecció. En relació amb la via dels oocists, s'ha comprovat que 10 oocists esporulats produeixen infecció en el porc.

Període d'incubació i de transmissibilitat

La invasió tissular s'inicia poques hores després d'haver ingerit el paràsit, i els símptomes poden començar a aparèixer una o dues setmanes postinfecció. La transmissibilitat entre éssers humans només es pot realitzar per via congènita i fonamentalment durant les fases inicials de la infecció.

Manifestacions clíniques

Les manifestacions clíniques estan associades a l'estat immune de l'hoste i a la forma de transmissió. En el malalt immunocompetent la fase aguda sovint és asimptomàtica. Els símptomes més freqüents són limfoadenopaties laterocervicals i febrícula.⁴¹

La clínica de la infecció congènita està associada a la fase de gestació, i pot oscil·lar des de la mort fetal fins al naixement de nadons sense clínica aparent. El risc de transmissió fetal s'incrementa amb el temps de gestació, però el dany en el fetus és superior si la infecció es produeix durant el primer trimestre. En aquests casos les manifestacions clíniques greus inclouen alteracions del SNC amb hidrocefàlia, calcificacions cerebrals, retard mental i retinocoroïditis. Altres manifestacions poden ser el rash cutani, hepatitis, pneumònia, miocarditis i miositis.

La toxoplasmosi ocular acostuma a ser una reactivació tardana d'una infecció toxoplàsmica adquirida de forma congènita, i es caracteritza per les lesions necròtiques a la retina.

En malalts immunodeprimits la toxoplasmosi se sol manifestar com una encefalitis focal i més rarament disseminada amb afectació cardíaca, hepàtica, pulmonar i cerebral.

Diagnòstic de laboratori

Habitualment es practiquen proves serològiques per determinar els anticossos. L'alta prevalença de la infecció fa necessària la diferenciació entre les fases aguda i crònica de la malaltia, que es pot fer mitjançant la determinació de l'increment de la taxa d'anticossos, la detecció d'IgM o IgA, el test d'afinitat dels anticossos o la determinació d'anticossos davant la P30, proteïna de superfície que s'expressa preferentment durant la fase aguda.

Les proves parasitològiques es fan servir poc sovint, tot i que es poden detectar trofozoïts i cists en biòpsies de ganglis limfàtics, cerebrals, miocardi o altres teixits i líquids, com el cefaloraquídi, l'amniòtic i el rentat bron-

coalveolar. Amb aquestes mostres es poden fer coloracions convencionals (Giemsa), d'immunofluorescència directa amb anticossos monoclonals, cultiu en fibroblastos o inoculació intraperitoneal al ratolí. La PCR presenta una alta sensibilitat i actualment és una bona eina per detectar la presència de *Toxoplasma* en mostres clíniques.

Tractament

El tractament de la toxoplasmosi varia segons el tipus d'infecció i l'estat immune de l'hoste. La toxoplasmosi adquirida en la persona malalta immunocompetent habitualment no necessita tractament i es resol de forma espontània. El tractament d'elecció per a les formes agudes és la combinació de sulfadiazina i pirimetamina, malgrat que la toxicitat d'aquests fàrmacs pot exigir la utilització de teràpies alternatives. Entre elles cal destacar el cotrimoxazole, la combinació de clindamicina i pirimetamina, l'atovaquona i l'azitromicina. En dones embarassades es recomana l'espíramicina per la menor toxicitat.

11.3.2 Fasciola i altres tremàtodes

Els tremàtodes són cucs plans, habitualment hermafrodites, amb un cicle biològic heteroxè.³⁸ El primer hoste intermediari és sempre un mol·lusc i el segon, si n'hi ha, varia de unes espècies a les altres, d'on prové la variable via de transmissió a l'ésser humà. Aquest s'infecta mitjançant la ingestió de les formes metacíclics encistades, o metacercàries, que poden ser vehiculades per l'aigua o vegetals (*Fasciola hepatica*), formigues (*Dicrocoelium dendriticum*), peixos (*Opisthorchis felinus*, *Clonorchis sinensis*, *Heterophyes heterophyes*), cargols (*Echinostoma* spp.) i crustacis (*Paragonimus* spp.). La distribució mundial dels tremàtodes és molt variable, habitualment lligada a la distribució del primer hoste intermediari.

Fasciola hepàtica

Cicle biològic i font d'infecció

Fasciola hepatica és una espècie que a Espanya és freqüent en el bestiar oví i boví, i rara en l'ésser humà. El cicle biològic es desenvolupa en àrees ramaderes humides. L'ésser humà s'infecta en ingerir metacercàries lliures en l'aigua de fonts i rierols, o vegetals salvatges amanits com créixens, lletsons, ranuncles i d'altres.

Pervivència als aliments

La coberta quística de les metacercàries els confereix una notable resistència a la dessecació, per la qual cosa poden sobreviure en el medi i sobre els vegetals durant diversos mesos, sobretot quan la temperatura és freda. Resisteixen 24 hores a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i es destrueixen a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$.⁴²

Patogènia

Les larves ingerides travessen la paret duodenal i passen a la cavitat abdominal, travessen la càpsula de Glisson i migren pel parènquima hepàtic fins arribar als conductes biliars, on maduren a adults. Durant la seva migració i assentament en els conductes biliars, les fascíoles produeixen una acció mecànica traumàtica i obstructiva, irritativa i inflamatòria.

Dosi infectant

La infecció es pot produir per la ingesta d'una sola metacercària, malgrat que la patologia és dosidependent. Per això, a causa del baix nombre de metacercàries que habitualment són ingerides, la majoria dels casos són paucisimptomàtics.

Període d'incubació i transmissibilitat

Les formes immadures del paràsit travessen la càpsula de Glisson entre el desè i el vintè dia postinfecció, i els adults es troben als canals biliars vora tres mesos, a partir dels quals s'inicia la posta d'ous. Aquests ous no són transmissibles a l'ésser humà; com que es tracta d'un paràsit de cicle heteroxè, per continuar el cicle aquests ous han de madurar a l'aigua o el fang i desenvolupar l'embrió miracidi que continuarà el cicle en cargols pulmonats del gènere *Limnea*.

Manifestacions clíniques

Les formes asimptomàtiques o paucisimptomàtiques són les més freqüents. Les formes agudes es caracteritzen per dolor abdominal, acompanyat de diarrea i constipació, a voltes amb alternança d'ambdues, hepatomegàlia, febre i eosinofília marcada. A partir del tercer mes es poden produir quadres de còlic hepàtic, icterícia i urticària.

Diagnòstic de laboratori

Durant les fases inicials de la infestació i quan encara no hi ha formes adultes, el diagnòstic s'acostuma a fer sobre la base de l'eosinofília i la detecció d'anticossos específics. A partir de les setmanes 10-12 postinfecció, l'eosinofília comença a baixar gradualment i el diagnòstic es pot dur a terme mitjançant la detecció d'ous a la femta. Els ous de *Fasciola* es caracteritzen per la mida, d'entre 120 i 140 µm, i perquè són operculats.

Tractament

Els fàrmacs utilitzats per al tractament de la fasciolosi són el bitionol, el praziquantel i el triclabendazole. L'eficàcia del tractament és més gran quan aquest s'administra durant les fases inicials de la infestació i quan el paràsit es troba encara en el parènquima hepàtic.

Altres trematodes

Altres espècies de trematodes transmeses per aliments són importants agents patògens en altres zones geogràfiques. Entre elles cal esmentar *Clonorchis sinensis*, de distribució oriental (Àsia oriental i illes del Pacífic), un paràsit hepàtic transmès per peixos d'aigua dolça que afecta uns 35 milions de persones. La seva disseminació està molt lligada a l'adobament dels estanys de cultiu de peixos amb femta humana i animal, i la seva prevalença es considera en franca fase d'ascens.⁴³

11.3.3 Cestodes

Els cestodes són cucs plans, habitualment paràsits heteroxens, les formes adultes dels quals es troben en el tub digestiu de vertebrats; les larves són paràsits de diversos teixits de vertebrats i invertebrats, segons les espècies. L'home pot estar infestat per formes adultes i larvàries segons l'espècie de què es tracti. Les espècies més freqüents que parasiten l'home a Catalunya en la seva forma adulta (tènies) són *Taenia saginata* i *Hymenolepis nana*. *Taenia solium*, encara que s'anomena sovint i causa una patologia greu quan les seves formes larvàries infecten l'ésser humà (cisticercosi), és excepcional i habitualment importada.⁴⁴

Taenia saginata

Cicle biològic i font d'infecció

La forma adulta de *T. saginata* parasita el budell prim de l'ésser humà. Aquest s'infecta quan ingereix la larva cisticerc, de 8 a 12 mm de diàmetre, emmascarada en el teixit conjuntiu adipós del bestiar boví. Es fixa a la mucosa del budell prim amb un escòlex, que conté ventoses per facilitar aquesta fixació, i desenvolupa un estròbil o cadena d'anells, en forma de cinta, que pot arribar a tenir diversos metres de longitud (fins a 12 metres). L'ésser humà elimina per la via anal els últims anells d'aquesta cadena, sacs plens d'ous, que passen a contaminar el medi. El bestiar boví s'infesta en ingerir aquests ous, habitualment disseminats per les pastures per animals copròfags (gavines, insectes, etc.), i desenvolupa una larva que es localitza al teixit conjuntiu.

Pervivència als aliments

Les larves cisticerc es mantenen viables a la carn durant molt temps. S'ha observat que les larves de *T. solium* (*Cysticercus cellulosae*) en carcasses mantingudes refrigerades a 4 °C romanen viables després de 26 dies.⁴⁵ Les de *T. saginata* (*C. bovis*) moren 15 minuts després si es congelen a -35 °C, i 10 hores després si es congelen a -5 °C.⁴⁶

Patogènia

La patologia de la teniosi deriva de l'acció mecànica i irritativa de l'escòlex en fixar-se a la mucosa, de l'ocupació d'espai a la llum intestinal i de l'espoliació de l'aliment.

Dosi infectant

La ingestió d'una sola larva, que és el més freqüent, provoca ja la infecció. D'altra banda, la mida considerable de l'adult dóna lloc a un fenomen de competència per l'espai intestinal, de manera que rarament hi ha una infecció múltiple, d'aquí el nom vulgar de solitària que rep aquest paràsit.

Període d'incubació i transmissibilitat

Els anells gràvids i els ous poden aparèixer a la femta entre 10 i 14 setmanes després de la infecció, i aquesta eliminació pot durar fins a 25 anys.

Manifestacions clíniques

Moltes infeccions són asimptomàtiques. El malalt pot presentar dolor abdominal poc definit, indigestió crònica i fam dolorosa.⁴⁴

Diagnòstic de laboratori

Es realitza habitualment mitjançant la identificació dels anells gràvids que expulsa el malalt de forma espontània o juntament amb la femta. La identificació específica es realitza mitjançant l'observació de la morfologia de l'úter i el nombre de ramificacions que presenta. També es pot diagnosticar mitjançant l'observació d'ous a la femta o als marges anals mitjançant la cinta de Graham o la cel·lofana adhesiva.

Tractament

Es tracta amb praziquantel, habitualment en una sola dosi.

Altres cestodes

Echinococcus granulosus i *E. multilocularis* són dues espècies de cestodes que poden parasitar l'ésser humà en la fase larvària. Els adults d'*E. granulosus* parasiten el tub digestiu del gos. L'ésser humà i altres espècies animals (ovelles, vaques, cavalls, porcs) que actuen com a reservoris de la infecció s'infesten en ingerir els ous de la tènica per contaminació a partir de la femta del gos, o per contacte directe amb aquest animal.

L'embrió que conté l'ou es dissemina per l'organisme per via hemàtica i desenvolupa la larva o quist hidatídic en territoris diversos. El més freqüent és el fetge, però també es pot desenvolupar al teixit pulmonar, renal, cerebral, ossi, etc.

La patologia de la hidatidosi és habitualment conseqüència de l'ocupació d'espai, i varia d'acord amb la mida del quist i el territori envaït. També pot

donar lloc a una reacció de tipus al·lèrgic, sobretot quan es produeix la ruptura del quist.

L'evolució de la malaltia és molt lenta i els símptomes no solen aparèixer fins que el quist té una mida considerable, habitualment un cop han transcorregut diversos anys des de la infestació.⁴⁴

E. multilocularis té un cicle biològic semblant a *E. granulosus* però salvatge. L'hoste definitiu és la guineu i l'hoste intermediari, diverses espècies de rosegadors camperols. L'home s'infesta en beure aigua o ingerir fruites de bosc (maduixes, nabius, gerds) o vegetals (pixallits) contaminats per la femta de guineus.

La larva en l'home produeix l'anomenada hidatidosi alveolar o multilocular, que envaeix i destrueix el teixit hepàtic de forma tumoral, de manera que dóna lloc a una patologia greu.

Hymenolepis nana presenta habitualment un cicle monoxè³⁸ i pot infestar el budell prim de l'ésser humà mitjançant la ingestió d'ous, presents en verdures contaminades i més rarament a l'aigua. Excepcionalment pot infestar les persones arran del seu cicle heteroxè. Les formes metacíclics són, en aquest últim cas, les larves cisticercoides que arriben a l'intestí humà per ingesta d'insectes, habitualment larves de coleòpters contaminants de farina i productes derivats.

11.3.4 Triquina

Les espècies del gènere *Trichinella* són cucs rodons, paràsits de la musculatura estriada de diverses espècies animals la transmissió dels quals es realitza per carnivorisme. A Espanya se'n troben dues espècies,³⁸ *T. spiralis*, causant de la triquinel·losi domèstica o sinantròpica, habitualment transmesa a l'ésser humà per porcs, i causant de malaltia greu, i *T. britovi*, responsable de la triquinel·losi feral o silvestre, transmesa habitualment per senglars i causant d'una patologia més lleu.⁴⁷

Cicle biològic i font d'infecció

Les larves enquistades en els teixits d'animals infestats envaeixen i maduren a la mucosa intestinal, on les femelles ponen embrions que es disseminen per l'organisme per les vies limfàtica i sangüínia per tornar a enquistar-se al teixit muscular. Els principals reservoris naturals de la triquinel·losi domèstica són els rosegadors, a partir dels quals s'infesta el porc. La triquinel·losi feral es manté a la natura entre carnívors i omnívors salvatges, i passa a l'ésser humà per la ingesta de carn de senglar. També s'han descrit casos de triquinel·losi per ingesta de carn de cavall.

Patogènia

La patologia característica de la triquinel·losi és el resultat de la migració larvària i la invasió dels teixits, i la seva intensitat és dosiddependent. Durant

les fases inicials, fins a 24-48 hores postinfecció, es pot desenvolupar una simptomatologia intestinal derivada de la presència de larves i adults a la mucosa. La migració larvària es caracteritza per una reacció tòxica a l'antigen del paràsit, i pot durar fins a 5-6 setmanes postinfecció. La invasió muscular, amb una especial predilecció pel diafragma, produeix la destrucció de les fibres musculars.

Pervivència en els aliments

Les larves de *T. spiralis* poden romandre viables, enquistades en animals vius, durant 6-10 anys, i en carcasses durant 2-3 mesos. La supervivència a la congelació depèn de la temperatura i la mida de la peça. Es considera que per a les peces petites (inferiors a 25 cm) es necessita una congelació de -15 °C durant més de tres setmanes per destruir les larves. Són molt resistents a la calor i es necessita que la temperatura superi els 60 °C per garantir la seva destrucció. L'efectivitat de la salmorra depèn de la concentració de sal a què s'arribi (amb un 19% de sal poden sobreviure fins a 6 setmanes) i el fumat és molt poc efectiu.⁴⁸

Dosi infectant

La ingesta d'unes poques larves pot produir infecció. La patologia és dosi-dependent i es considera que la ingesta de cinc larves per gram de pes corporal pot ser letal.

Període d'incubació i transmissibilitat

La patologia intestinal es pot iniciar ja 12 hores després d'haver ingerit la carn infestada, amb l'aparença d'un quadre de toxiinfecció alimentària. El quadre tòxic produït durant la migració larvària s'inicia en els cinc o sis dies posteriors a la infecció.

Si la dosi infectant ha estat elevada, es poden eliminar larves per la femta durant els primers dies de la infecció i mentre dura la presència d'adults i la posta d'embrions a la mucosa intestinal.

Manifestacions clíniques

El quadre clínic de la triquinel·losi varia d'acord amb l'evolució del paràsit dins l'organisme. S'inicia amb la fase intestinal, caracteritzada per dolor abdominal, diarrea i vòmit. La reacció tòxica produïda durant la migració larvària pot provocar febre, edemes de cara i mans i petèquies. Les miàlgies generalitzades amb debilitat muscular i el mal de cap apareixen a la majoria de les infeccions clíniques. La pneumònia, la miocarditis i l'afectació neurològica tan sols es troben presents en els casos greus.⁴⁷

Diagnòstic de laboratori

El diagnòstic se sol establir a partir d'un quadre clínic suggeridor en un context epidemiològic adient. La eosinofília és molt marcada i en alguns casos

pot arribar al 90%. La confirmació del laboratori es realitza mitjançant la visualització de les larves en les biòpsies musculars o per serologia. La detecció d'anticossos no és positiva fins transcorregudes unes tres setmanes postinfecció, i perdura durant molts anys. Les tècniques de detecció d'antigen i PCR permeten fer el diagnòstic en les fases inicials de la malaltia.

Tractament

Habitualment és simptomàtic ja que els antihelmíntics no són efectius davant les larves enquistades. L'administració de mebendazole durant els primers dies de la infecció en els quals hi ha adults a la mucosa intestinal pot aturar la posta d'embrions.⁴⁷

11.3.5 Anisàkids

Els anisàkids són cucs rodons. Els adults són paràsits gastrointestinals de mamífers aquàtics (balenes, dofins, foques, etc.) i de grans peixos depredadors. L'espècie més comuna que afecta l'ésser humà és *Anisakis simplex*. Altres espècies freqüents són *Pseudoterranova decipiens* i *Contraecum aduncum*.

Cicle biològic i font d'infecció

Tenen un cicle aquàtic que es desenvolupa amb la concurrència de diverses espècies d'hostes (poliheteroxè). Aquest cicle es pot complicar molt atesa la capacitat que tenen les larves dels anisàkids de passar d'unes espècies animals a d'altres, reencapsular-se als seus teixits i mantenir la capacitat per infestar nous hostes i transformar-se en adults quan arriben a l'espècie adient.³⁸ Les larves mesuren 15-20 mm de llarg i 1 mm de diàmetre, i es poden trobar lliures o enquistades, cargolades a la musculatura i les vísceres dels peixos.

L'home s'infesta accidentalment quan ingereix hostes intermediaris (peixos i crustacis) parasitats.

Pervivència als aliments

Les larves d'anisàkids sobreviuen la refrigeració el temps que el producte infestat (peix, marisc) resta apte per al consum. La congelació ràpida del peix i el manteniment a -20 °C produeix la destrucció de les larves, així com l'escalfament a 60 °C durant 5 minuts. En salmorra les larves moren si es mantenen a una concentració de sal del 20 % durant 21 dies. L'efectivitat dels confitats en vinagre és molt baixa i depèn de la concentració d'acètic a la qual s'arribi, per la qual cosa s'aconsella fer una congelació prèvia del peix que es vulgui consumir cru o en vinagre.⁴⁹

Patogènia

Un cop ingerides, les larves infestants poden produir patologia gastrointestinal, habitualment per mecanisme invasor-mecànic, i també sistèmica a causa de fenòmens al·lèrgics. La penetració de les larves a les mucoses gàstrica i intestinal pot donar lloc a la formació de granulomes eosinofílics o perforacions de la paret intestinal. La termostabilitat de l'al·lergen de les larves d'anisàkids ha estat objecte de controvèrsia, encara que actualment s'accepta que les reaccions al·lèrgiques són degudes a les secrecions glandulars de les larves vives, quan aquestes envaeixen la mucosa gastrointestinal.⁵⁰

Dosi infectant

Es considera que la ingesta d'una sola larva viva pot produir patologia.

Període d'incubació i transmissibilitat

Els símptomes de la invasió per larves d'anisàkids es poden manifestar poca estona després de la ingestió, tot just en arribar aquestes a l'esòfag i iniciar la penetració a la mucosa esofàgica o gàstrica.

La manca de maduració de les larves en l'ésser humà i per tant la inexistència de formes de disseminació impedeix la seva transmissibilitat a partir de persones infestades.

Manifestacions clíniques

El quadre clínic depèn de la regió gastrointestinal afectada. La forma gàstrica pot aparèixer entre una i dotze hores després d'haver ingerit el peix cru, i inclou dolor epigàstric agut, conseqüència de la perforació de la mucosa gàstrica per part de les larves, nàusees i vòmit. La forma intestinal és menys freqüent i pot donar una patologia d'abdomen agut o una obstrucció intestinal per estenosi de la regió on es localitza la larva.

Els quadres d'hipersensibilitat a l'antigen dels anisàkids poden variar des d'una urticària benigna fins a un angioedema i xoc anafilàctic.

Diagnòstic de laboratori

La gastroscòpia permet visualitzar i extreure la larva, que s'identificarà al laboratori pels seus caràcters morfològics. Aquesta identificació també es pot fer a partir de l'estudi histopatològic de biòpsies. També es fan servir tècniques immunològiques de detecció de IgE específica (RAST) i IgG (WB).

Tractament

Habitualment per extracció de la larva mitjançant endoscòpia o cirurgia.

11.3.6 Geohelminths

Sota el nom de geohelminthosis s'agrupen les parasitosis causades per helminths, les formes metacíclics dels quals maduren al terra i la seva trans-

missió a l'home es realitza habitualment per contaminació fecal tel·lúrica. Diverses d'aquestes espècies tenen els aliments com a principal via de transmissió. Entre les espècies de paràsits intestinals de l'ésser humà en la fase adulta cal esmentar *Ascaris lumbricoides* i *Trichurus trichiura*,^{38,41} la infecció de les quals s'adquireix mitjançant la ingestió d'ous embrionats, altament resistents a causa de les seves gruixudes cobertes. La principal font d'infecció per a l'ésser humà és la contaminació fecal tel·lúrica i els vegetals contaminats resultat de la utilització de la femta humana com a adob.

Entre altres espècies de geohelminths que poden infestar l'ésser humà cal esmentar *Toxocara canis*, una espècie zoonòtica pròpia del gos que produeix en l'ésser humà una patologia de larva migratòria visceral. Les persones s'infesten en ingerir ous embrionats procedents de la contaminació fecal del gos, i les larves travessen la mucosa intestinal i migren per l'organisme sense arribar a formes adultes, ja que es tracta d'un parasitisme extraviat.

Alguns centres com el Centers for Disease control and Prevention (CDC) als EUA faciliten informació en línia sobre les malalties parasitàries.⁵¹

Bibliografia

1. Bisno AL, Stevens DL. *Streptococcus pyogenes*. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2362-2379.
2. Katzenell U, Shemer J, Bar-Dayan Y. Streptococcal contamination of food: an unusual cause of epidemic pharyngitis. *Epidemiol Infect* 2001; 127: 179-184.
3. Ollinger-Snyder P, Matthews ME. Food safety: review and implications for dietitians and dietetic technicians. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 163-168.
4. US Food and Drug Administration (FDA). Bad Bug Book [web en línia]. Última actualització: 30 de gener de 2003. Disponible a: <www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html> [consultat: 11 d'agost de 2005]
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). AZ Index [web en línia]. Disponible a: <www.cdc.gov/az.do> [consultat: 11 d'agost de 2005]
6. Heymann DL, editor. Control of Communicable Diseases Manual. 18a ed. Washington DC: APHA, 2004.
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Morbidity and Mortality Weekly Report [web en línia]. Disponible a: <www.cdc.gov/mmwr/> [consultat: 11 d'agost de 2005]
8. Claesson BE, Svensson NG, Gotthardsson L, Gotthardsson L, Garden B. A food-borne outbreak of group A streptococcal disease at a birthday party. *Scand J Infect Dis* 1992; 24: 577-586.
9. Shemesh E, Fischel T, Goldstein N, Alkan M, Livneh A. An outbreak of food-borne streptococcal throat infection. *Isr J Med Sci* 1994; 30: 275-278.
10. Pegus DA, Ohl ME, Miller SI. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2636-2654.
11. Prats G, Mirelis B. *Enterobacteriaceae*. A: Perea EJ, editor. Microbiología Clínica. Barcelona: Doyma, 1992: 624-640.
12. Edelman R, Levine MM. Summary of an international workshop on typhoid fever. *Rev Infect Dis* 1986; 8: 329-349.
13. Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. *N Engl J Med* 2002;347:1770-82.
14. Hornick RB, Greisman SE, Woodward TE, DuPont HL, Dawkins AT, Snyder MJ. Typhoid fever: pathogenesis and immunologic control. *N Engl J Med* 1970; 283: 686-691.
15. Stuart BM, Pullen RL. Typhoid: clinical analysis of three hundred and sixty cases. *Arch Intern Med* 1946; 78: 629-661.
16. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Manual de vacunacions. 3a ed. Quaderns de Salut Pública núm. 14. Barcelona: Direcció General de Salut Pública, 2000.

17. Corbel MJ. Brucellosis: Epidemiology and prevalence worldwide. A: Young EJ, Corbel MJ, editors. *Brucellosis: Clinical and Laboratory Aspects*. Boca Raton: CRC Press, 1989: 25-40.
18. Young EJ. *Brucella* species. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2669-2674.
19. Swaminathan B. *Listeria monocytogenes*. A: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2001: 383-409.
20. Lorber B. *Listeria monocytogenes*. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2478.
21. Crum NF. Update on *Listeria monocytogenes* infection. *Curr Gastroenterol Rep* 2002; 4: 287-296.
22. De Simon M, Ferrer MD. Initial numbers, serovars and phagovars of *Listeria monocytogenes* isolated in prepared foods in the city of Barcelona (Spain). *Int J Food Microbiol* 1998; 44: 141-144.
23. Schlech WF 3rd. Foodborne listeriosis. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 770-775.
24. Grif K, Patscheider G, Dierich MP, Allerberger F. Incidence of fecal carriage of *Listeria monocytogenes* in three healthy volunteers: a one-year prospective stool survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22: 16-20.
25. Ooi ST, Lorber B. Gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1327-1332.
26. Dalton CB, Austin CC, Sobel J, Hayes PS, Bibb WF, Graves LM, et al. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N Engl J Med* 1997; 336: 100-105.
27. Hollinger FB, Emerson SU. Hepatitis A virus. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. 4a ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 799-840.
28. Sánchez G, Pintó RM, Vanaclocha H, Bosch A. Molecular characterization of hepatitis a virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4148-4155.
29. Sánchez G, Bosch A, Gómez-Mariano G, Domingo E, Pintó RM. Evidence for quasispecies distributions in the human hepatitis A virus genome. *Virology* 2003; 315: 34-42.
30. Bell BP, Anderson DA, Feinstone SM. Hepatitis A virus. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2162-2185.
31. Feinstone SM, Gust ID. Hepatitis A virus. A: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical Virology*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2002: 1019-1039.

32. Koopmans M, Duizer E. Foodborne viruses: an emerging problem. *Int J Food Microbiol* 2004; 90: 23-41.
33. Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, et al., editors. *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Academic Press, 2000.
34. Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E virus. A: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. 4a ed. Filadèlfia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 3051-3061.
35. Anderson DA, Shrestha IL. Hepatitis E virus. A: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical Virology*. 2a ed. Washington DC: ASM Press, 2002: 1061-1074.
36. Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E virus. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2204-2217.
37. Clayson E, Vaughn D, Innis B. et al. Association of hepatitis E virus with an outbreak of hepatitis at a military training camp in Nepal. *J Med Virol* 1998; 54: 178-182.
38. Gállego J. *Manual de Parasitología: Morfología y Biología de los Parásitos de Interés Sanitario*. 2a ed. Barcelona: Edicions Universitat de Barcelona, 2003.
39. Dubey JP. Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol* 2004; 126: 57-72.
40. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans [fe d'errata a *Int J Parasitol* 2001; 31: 217-220]. *Int J Parasitol* 2000; 30: 1217-1258.
41. Cook CG, Zumla AI, editors. *Manson's Tropical Diseases*. 21a ed. Filadèlfia: Saunders, 2003.
42. Talegón Heras F. *Fasciolosis Hepática de los Rumiantes*. León: Publicaciones Científicas Ovejero, 1974.
43. Lun ZR, Gasser RB, Lai DH, Li AX, Zhu XQ, Yu XB, et al. Clonorchiasis: a key foodborne zoonosis in China. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 31-41.
44. King CH. Cestodes. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 3285-3293.
45. Fan PC, Ma YX, Kuo CH, Chung WC. Survival of *Taenia solium* cysticerci in carcasses of pigs kept at 4 degrees C. *J Parasitol* 1998; 84: 174-175.
46. Kozakiewicz B. Effect of low temperatures on the viability of *Cysticercus bovis*. *Pol Arch Weter* 1986; 24: 405-412.
47. Portus M, Mas J. Infecciones Causadas por Nematodos Tisulares. A: Farre-ras P, Rozman C, editors. *Medicina Interna*. 15a ed. Madrid: Elsevier, 2004: 2447-2449.

48. Gamble HR, Bessonov AS, Cuperlovic K, Gajadhar AA, van Knapen F, Noeckler K, et al. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet Parasitol* 2000; 93: 393-408.
49. Butt AA, Aldridge KE, Sanders CV. Infections related to the ingestion of seafood. Part II: parasitic infections and food safety [fe d'errata a *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 81]. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 294-300.
50. Alonso-Gómez A, Moreno-Ancillo A, López-Serrano MC, Suárez-de-Parga JM, Daschner A, Caballero MT, et al. *Anisakis simplex* only provokes allergic symptoms when the worm parasitises the gastrointestinal tract. *Parasitol Res* 2004; 93: 378-384.
51. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Division of Parasitic Diseases [web en línia]. Disponible a: <http://www.cdc.gov/ncidod/dpd/> [consultat: 15 d'agost de 2005]

12. Prions

Els prions són proteïnes (*proteinaceous infectious particles*) que s'han identificat com a agents causals de malalties del sistema nerviós central en animals com ara la tremolor ovina (*scrapie*) i l'encefalopatia espongiforme bovina (EEB), i en l'ésser humà, en el qual causen el kuru i la malaltia de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), entre d'altres. Aquestes malalties es caracteritzen fonamentalment perquè afecten el sistema nerviós central i produeixen símptomes d'atàxia cerebel·losa, tremolors, mioclònies, alteracions visuals i demència, entre d'altres.

Diverses observacions epidemiològiques van fer sospitar que alguna d'aquestes malalties era transmissible, com ara el kuru, una malaltia humana endèmica a Nova Guinea que es transmetia a través del canibalisme; aquesta sospita es va confirmar amb l'*scrapie*, ja que es va transmetre experimentalment mitjançant extractes cerebrals d'ovelles malaltes a sanes i posteriorment a ratolins i hámsters. Tot i així, el panorama és complex perquè en alguna d'aquestes malalties, juntament amb formes en les quals es pot determinar la cadena de transmissió, es descriuen formes esporàdiques (aparentment no transmeses) i formes amb caràcter familiar (hereditàries).¹⁻⁴

Recentment s'han descrit uns 177 casos (juliol de 2005) d'una variant de la malaltia de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ) que afecta a l'ésser humà i que, probablement, li ha estat transmesa pel consum de teixits procedents de ramat boví afectat per l'encefalopatia espongiforme bovina, incorrectament anomenada “malaltia de les vaques boges”.

A continuació només es farà referència a la nova variant de la malaltia de Creutzfeldt-Jakob.⁵

Reservori i font d'infecció

El ramat boví ha estat infectat probablement per la incorporació de proteïnes de ruminants als pinsos, elaborats per mètodes que no inactiven els prions, en particular l'abandó de l'ús de solvents orgànics per a la seva preparació.⁵

Tot indica que la vMCJ es transmet pel consum de teixits d'animals infectats. El reservori el constituïria el ramat boví afectat per l'EEB. L'eficiència de la transmissió per via digestiva, segons dades experimentals, és molt baixa i improbable en una sola ingesta.

D'altra banda, no tots els teixits procedents d'un animal infectat contenen la mateixa quantitat de prions, i per tant la capacitat de transmissió varia. Des d'aquest punt de vista, el major risc correspon al teixit cerebral, la dura-

màter, nervis cranials, medul·la espinal, ulls i en menor proporció els teixits limfàtics, timus i melsa; la resta de teixits tenen una infectivitat molt baixa o nul·la, encara que recentment s'ha assenyalat la transmissió per la sang.⁵⁻⁷

La vigilància activa sobre els animals destinats al consum a Catalunya s'inicia l'any 2001. Es basa en l'obligatorietat d'una prova ràpida de diagnòstic de laboratori per a tots el bovins de més de 24 mesos destinats a consum humà i a aquells que s'han de sotmetre a sacrifici d'urgència o estan morts, excepte en epidèmies definides. També s'estudia una mostra representativa d'ovins i caprins de més de 18 mesos sacrificats per a consum humà.

Pervivència als aliments

Els prions són excepcionalment resistents als agents físics i químics i són extraordinàriament perdurables, de manera que els teixits contaminats poden mantenir la infectivitat durant anys.⁷

Patogènia

La naturalesa definitiva dels prions no està del tot aclarida. Alguns autors pensen que l'agent causal d'aquestes malalties pot ser un virus, però Prusiner ha proposat la teoria del caràcter proteic d'aquest agent.⁸ Segons aquesta hipòtesi els prions s'originen a partir d'una proteïna (PrP^c o PrP 33-35) codificada normalment al genoma humà i al d'altres animals, una proteïna que és fisiològicament processada i la funció de la qual és desconeguda actualment. Aquesta proteïna normal, per raons indeterminades (fluctuacions a l'atzar?), pot adquirir una conformació terciària (plegament) anormal, de manera que aleshores s'anomena PrP^{sc}, encara que manté la mateixa seqüència d'aminoàcids que la seva forma originària PrP^c (isoforma). Quan aquesta forma anòmala arriba a una concentració suficient indueix directament i de manera exponencial al plegament anòmal de la PrP^c normal. La PrP^{sc} és una forma molt resistent a diferents agents físics i químics, incloses les proteases.

Aquesta isoforma modificada es dipositaria als teixits o tindria una activitat tòxica (o ambdues) que donaria lloc a lesions neuropatològiques i a les alteracions fisiopatològiques del sistema nerviós central pròpies d'aquesta malaltia, caracteritzades per lesions espongiformes amb astrogliosis i dipòsits d'amiloide rics en PrP^{sc}. Aquestes lesions estan localitzades al còrtex, els ganglis basals i el tàlem, i no s'acompanyen de reacció inflamatòria ni immunològica davant de l'agent causal.⁹

Dosi infectant

No es coneix l'eficiència de la transmissió a l'ésser humà dels prions de l'EEB per via digestiva.

Períodes d'incubació i transmissibilitat

No es coneix el període d'incubació de la vMCJ. En les formes iatrogèniques de MCJ varia extraordinàriament, entre 15 mesos i més de 30 anys.

Manifestacions clíniques

La vMCJ es dona en persones més joves (de 12 a 74 anys, amb una mitjana de 26) que la forma esporàdica de la MCJ (amb una mitjana 65 anys). L'evolució també és més llarga, i arriba als catorze mesos en la mesura que en la forma esporàdica la durada de l'evolució fins a la mort és de quatre o cinc mesos.

La vMCJ es caracteritza per l'aparició de símptomes sensitius com disestèsies, parestèsies i dolor a la cara, extremitats, mans i peus, així com manifestacions psiquiàtriques relativament precoces, al voltant del quart mes. Durant l'últim període de la malaltia (superior a 6 mesos) la simptomatologia neurològica és greu, i presenta mioclònies, incoordinació cerebel·losa, corea, etc. La mort sobrevé després d'uns 14 mesos d'evolució.

Diagnòstic de laboratori

En la vMCJ les dades hematològiques i bioquímiques convencionals són anodines. A l'LCR les proteïnes estan lleugerament augmentades i el nombre de cèl·lules és normal. En la meitat aproximadament de les persones malaltes amb vMCJ, i encara més en les afectades per la MCJ, a l'LCR es troba la proteïna 14-3-3, que és un component normal de les neurones i, encara que no és específica d'aquestes malalties, quan es troba ajuda a diferenciar-les de la malaltia d'Alzheimer, amb la qual es poden confondre.

La prova diagnòstica més concloent ve donada per l'estudi neuropatològic del SNC. El diagnòstic es fa per les lesions característiques, i mitjançant immunohistoquímica per detectar la PrP^{sc}. La detecció per immunohistoquímica de la PrP^{sc} a les amígdals també és específica de la vMCJ. La detecció d'aquesta proteïna per Western Blot a partir del cervell dels malalts sembla més sensible que la immunohistoquímica.¹⁰⁻¹³

Tractament

Actualment no hi ha cap tractament eficaç per a aquesta malaltia, ni per a cap de les altres atribuïdes als prions. La profilaxi és l'única actitud possible.

Cal evitar la introducció de proteïnes d'origen animal en l'alimentació del bestiar per evitar la contaminació.

Cal controlar la cadena alimentària per evitar la distribució de productes contaminats; per això s'ha de controlar la presència d'animals infectats i assegurar que la seva carn s'introdueixi als circuits de distribució.

Els teixits i les substàncies biològiques contaminats cal manipular-los amb especial cura utilitzant bata, guants, mascareta i ulleres,^{14,15} i la millor mesura per als productes que ho permetin és la incineració^{15,16} (<www.doh.gov.uk/cjd/consultation>).

Respecte al material i els objectes contaminats resistents a la calor, aquests s'han de tractar per procediments químics o tèrmics. El material de laboratori, quan sigui possible, ha de ser d'un sol ús i incinerable.

El procediment químic d'elecció és l'hipoclorit sòdic, s'ha de fer servir a 20.000 ppm de clor lliure (2% de clor lliure que s'aconsegueix amb lleixiu comercial amb 40 g/l diluït a la meitat) durant una hora a temperatura ambient, o hidròxid sòdic 1 N (40g/l) durant una hora a temperatura ambient, mantenint sempre humides les superfícies que cal tractar.^{16,17}

Encara que un cicle d'autoclau de 18 minuts o sis cicles de 3 minuts a 137 °C no són totalment efectius, quan es combinen amb un mètode químic incrementen l'eficàcia d'ambdós.

Cal assenyalar que l'alcohol, el formol, l'òxid d'etilè, la calor seca i les radiacions ionitzants no són útils.

Per a més detalls, consulteu la *Guia per a la prevenció de les encefalopaties espongiformes transmissibles*⁷ i la *Guia d'antisèptics i desinfectants* del Departament de Salut.¹⁸

Bibliografia

1. Asher DM. Trasmissible spongiform encephalopathies. A: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8a ed. Washington DC: ASM Press, 2003: 1592-1604.
2. Chakraborty C, Nandi S, Jana S. Prion disease: a deadly disease for protein misfolding. *Curr Pharm Biotechnol* 2005; 6: 167-177.
3. Weissmann C. The state of the prion. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 861-871.
4. Tyler KL. Prions and prion diseases of the central nervous system. A: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6a ed. Filadèlfia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2219-2235.
5. Schonberger LB. New variant Creutzfeldt-Jakob disease and bovine spongiform encephalopathy. *Infect Dis Clin North Am* 1998; 12: 111-121.
6. Wells GA, Hawkins SA, Green RB, Austin AR, Dexter I, Spencer YI, et al. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Vet Rec* 1998; 142: 103-106.
7. Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. Guia per a la prevenció i el control de les encefalopaties espongiformes transmissibles. Quaderns de Salut Pública núm. 17. Barcelona: Direcció General de Salut Pública, 2002.
8. Prusiner SB. The prion diseases. *Sci Am* 1995; 272: 48-51, 54-57.
9. Unterberger U, Voigtlander T, Budka H. Pathogenesis of prion diseases. *Acta Neuropathol (Berl)* 2005; 109: 32-48.
10. Kretschmar HA, Ironside JW, DeArmond SJ, Tateishi J. Diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 1996; 53: 913-920.
11. Deslys JP, Grassi J. Screening tests for animal TSE: present and future. *Pathol Biol (Paris)* 2005; 53: 221-228.
12. Cervenakova L, Brown P. Advances in screening test development for transmissible spongiform encephalopathies. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004; 2: 873-880.
13. Dabaghian RH, Mortimer PP, Clewley JP. Prospects for the development of pre-mortem laboratory diagnostic tests for Creutzfeldt-Jakob disease. *Rev Med Virol* 2004; 14: 345-361.
14. Budka H, Aguzzi A, Brown P, Brucher JM, Bugiani O, Collinge J, et al. Tissue handling in suspected Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies (prion diseases). *Brain Pathol* 1995; 5: 319-322.
15. US Department of Labor. Occupational Safety and Health Administration (OSHA). 29 CFR Part 1910.1030. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. *Federal Register* 1991; 56: 64004-64182. Disponible a: <www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=FEDE RAL_REGISTER&p_id=13197> [consultat: 15 d'agost de 2005]

16. World Health Organization (WHO). Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies. Report of a WHO Consultation. Ginebra, 1999. Disponible a: <www.who.int/csr/resources/publications/bse/whocdscsraph2003.pdf> [consultat: 15 d'agost de 2005]
17. Taylor DM. Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: A review. *Vet J* 2000; 159: 10-17.
18. Departament de Salut. Antisèptics i desinfectants. Colecció: Recomanacions per a la prevenció de la infecció als centres sanitaris. Barcelona: Generalitat de Catalunya, 2006.



www.gencat.cat/salut

ISBN 84-393-7091-1



9 788439 370918