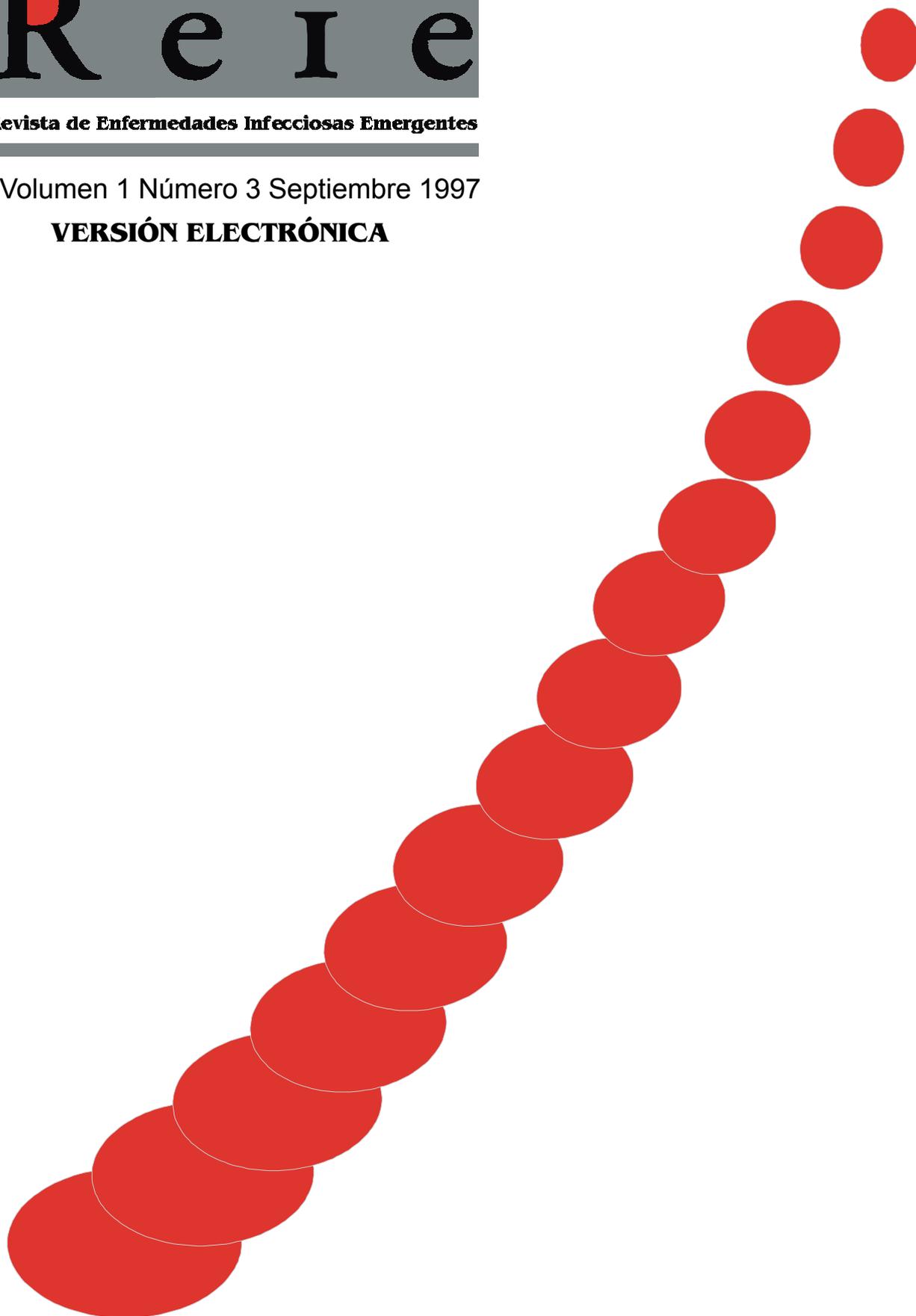


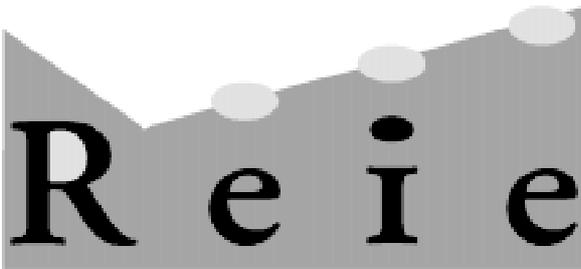
Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

Volumen 1 Número 3 Septiembre 1997

VERSIÓN ELECTRÓNICA

ISSN (en trámite)





Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

Volumen 1, número 3 Septiembre 1997

Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

Versión Electrónica

ISSN (en trámite)

Director y Editor Jefe

Nestor Oscar Stanchi

Editor

Pablo Eduardo Martino

Director Honorario

Roberto A. Cacchione

Comité de Redacción

N.O. Stanchi
P.E. Martino
E.F. Pennimpede
R. de Torres

Secretario de Redacción

D.O. Arias

Revisión

N.B. Vázquez

Responsable Versión Electrónica

S.G. Corva

Consultores

Astarloa Laura, Argentina;
Benetucci Jorge, Argentina;
Bianchini Hebe, Argentina;
Caffarena Roberto, Uruguay;
Capano Francisco, Uruguay;
Carballal Guadalupe, Argentina;
de Torres Ramón, Argentina;
Farinati Alicia, Argentina;
Gimeno Emilio, Argentina;
Gómez Carlos, Argentina;
Kantor Isabel, Argentina;
Leardini Nélide, Argentina;
Manzulo Alfredo, Argentina;
Margni Ricardo, Argentina;
Martino Olindo, Argentina;
Montero Gei Fernando, Costa Rica;
Moras Eduardo, Argentina;
Negroni Ricardo, Argentina;
Parma Alberto Ernesto, Argentina;
Pennimpede Enrique, Argentina;
Ratto Lina, Perú;
Sánchez C. María, Chile;
Somma-Moreira Raúl E., Uruguay;
Zorzópulos Jorge, Argentina.

Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

Editor Responsable: Nestor Oscar Stanchi

E-mail del director y editor jefe:
stanchi@fcv.medvet.unlp.edu.ar.

Auspiciada por

Asociación Argentina de Microbiología

Asociación Argentina de Zoonosis

Fundación Chiron, para la Difusión y el Progreso de la Ciencia (en formación)

Colegio Veterinario de la Provincia de Buenos Aires

La **Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes (REIE)** (versión electrónica) se publica regularmente cuatro veces al año en marzo, julio, setiembre, y diciembre.

Las opiniones expresadas por los autores que contribuyen a esta revista no reflejan necesariamente las opiniones de este medio, ni de las entidades que la auspician o de las instituciones a que los autores pertenecen.

Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier metodología actual o a crearse del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. El uso de nombres comerciales está destinado únicamente para la identificación y no implica el respaldo directo, o indirecto del Ministerio de Salud de la Nación Argentina ni de los países respectivos de donde provengan los trabajos. Tampoco se garantizan ni respaldan los productos promocionados en los avisos de publicidad.

Los editores no se responsabilizan por la exactitud de las traducciones, las que se realizan con el solo fin de facilitar la lectura de los profesionales de lengua hispana.

Traducciones con autorización del Editor de Emerging Infectious Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.

Acceso Electrónico a Traducciones de Emerging Infectious Diseases

Si Ud. tiene acceso a Internet, puede recuperar los *artículos traducidos* de la revista electrónicamente mediante el protocolo de traslado de archivo (File Transfer Protocol) (FTP anónimo). Las traducciones están disponibles en formato de archivo: ASCII que no contiene figuras ni tablas en la dirección <ftp://fcv.medvet.unlp.edu.ar/pub/EID>.

Para más información sobre cómo recibir Enfermedades Infecciosas Emergentes electrónicamente, enviar un e-mail a stanchi@fcv.medvet.unlp.edu.ar. Autorizada la reproducción con fines académicos-docentes mencionando la fuente.

La **Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes REIE** intenta difundir los conocimientos producidos en el campo de las enfermedades infecciosas nuevas y emergentes, creando un foro de discusión para los países de habla hispana. **REIE** contribuirá mediante traducciones autorizadas de la revista Emerging Infectious Diseases (CDC) y trabajos producidos en latinoamérica a dar una dura lucha contra estas enfermedades.

Nota de la Versión Electrónica: La versión electrónica de REIE puede diferir ligeramente de la versión impresa. Cuando se realicen referencias a esta revista deberá aclararse como REIE (Version Electrónica), haciendo mención de su ubicación en el <ftp://ftp.unlp.edu.ar/pub/EID>.

Impreso en Argentina
Printed in Argentina

Registro Nacional de la Propiedad Intelectual
(Ley 11.723) ISSN en trámite

© Propietario N.O. Stanchi
Dirección: CC 741 (1900)
La Plata, Buenos Aires, Argentina.
TELE/FAX: 54-21-579806

FORO de Discusión en INTERNET sobre
Enfermedades Emergentes en Español
dirección electrónica

Se solicita canje - On demande l'échange - We ask for exchange - Si prega lo scambio - Man bitter um austauch

Contenidos

REVISTA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EMERGENTES

Versión Electrónica

Volumen 1, número 3

Septiembre 1997

Revisiones

4 *Síndrome de Shock Tóxico Streptocócico: Espectro de la Enfermedad, Patogénesis, y Nuevos Conceptos en el Tratamiento, Dennis L. Stevens

14 Bacterias espiraladas en el Estómago Humano: Helicobacter Gástrico, Andre Dubois

Actualidad

20 EL Virus del HIV-1 de Pacientes May Harbor de Diferentes Subtipos Filogenéticos: Las implicancias para la Evolución de la Pandemia HIV/SIDA, Danuta Pieniazek, Luiz M. Janini, Artur Ramos, Amilcar Tanuri, Mauro Schechter, Jose M. Peralta, Anna C. P. Vicente, Norman K. Pieniazek, Gerald Schochetman, y Mark A. Rayfield

23 Infección Simultánea de Ninfas de *Ixodes ricinus* por dos especies de *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato: posibles implicaciones de las manifestaciones de clínicas, Bruno Pichon, Edmond Godfroid, Bernard Hoyois, Alex Bollen, Francois Rodhain, y Claudine Pérez-Eid

25 Epidemiología y Relaciones Evolutivas entre cepas de HIV Subtipo F Rumano y Brasileño, Claudiu I. Bandea, Artur Ramos, Danuta Pieniazek, Rodica Pascu, Amilcar Tanuri, Gerald Schochetman, y Mark A. Rayfield

28 La Comunicación Electrónica Facilita la Investigación de un Altamente Brote de alta dispersión: Salmonella en la super carretera, Barbara E. Mahon, Dale D. Rohn, Sheila R. Pack, and Robert V. Tauxe

Comentarios

31 La reemergencia del Virus del Ebola en Africa, Anthony Sanchez, Thomas G. Ksiazek, Pierre E. Rollin, Clarence J. Peters, Stuart T. Nichol, Ali S. Khan, y Brian W. J. Mahy

33 Posibilidades para el Control de la Fiebre Hemorrágica Boliviana, Paul E. Kilgore, Clarence J. Peters, James N. Mills, Pierre E. Rollin, Lori Armstrong, Ali S. Khan, y Thomas G. Ksiazek

Noticias y Notas

36 Recomendaciones para una Estrategia Regional para la Prevención y Control de Enfermedades Infecciosas Emergentes en las Américas, Daniel B. Epstein

*Traducciones de Emerging Infectious Diseases vol1 n3, 1995

Síndrome de Shock Tóxico Streptocócico: Espectro de la Enfermedad, Patogénesis, y Nuevos Conceptos en el Tratamiento

Dennis L. Stevens Ph.D., M.D.¹

Professor of Medicine, University of Washington School of Medicine, Seattle, Washington
Chief, Infectious Disease Veterans Affairs Medical Center, Boise, Idaho, USA

Desde la década de 1980 hubo un marcado aumento en el reconocimiento e informe de infecciones por Streptococcus grupo A altamente invasivo con o sin fascitis necrotizante asociadas al shock y falla orgánica. Tales casos dramáticos se han definido como Shock tóxico por streptococcus. Las cepas de Streptococcus grupo A aisladas de pacientes con enfermedad invasiva han sido predominantemente M tipos 1 y 3 que producen exotoxinas pirogénicas A, B o ambas. En este informe, se ponen de manifiesto y se comparan los aspectos demográficos y clínicos de la bacteriemia streptocócica, miositis, y fascitis necrotizante con los del síndrome de shock tóxico streptocócico. Se presentan también los conceptos actuales en la patogénesis de la infección por streptococcus invasivo, con énfasis en la interacción entre el grupo A de Streptococcus de los factores de virulencia y los mecanismos de defensa del hospedador. Finalmente, se discuten nuevos conceptos en el tratamiento del síndrome de shock tóxico por streptococcus.

Un patógeno emergente puede ser uno que es totalmente nuevo (p. ej., el virus de la inmunodeficiencia humana), uno que era conocido pero ha sido sólo recientemente identificado (p. ej., *Helicobacter pylori*), o uno que es antiguo pero que ha aprendido nuevos trucos. El último tipo es, como Dr. Stanley Falkow sostiene, meramente tratando de «sobrevivir» en un ambiente cambiante.

Sin considerar la presión ambiental, muchos patógenos antiguos han llegado a ser los mayores problemas clínicos a causa del aumento de su virulencia o de la resistencia antibiótica (p. ej., neumococo resistente a penicilina, *Mycobacterium tuberculosis* resistente a multidrogas, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, y *Enterococcus faecium* vancomicina resistente).

Problemáticamente, Streptococcus grupo A (GAS) es la quintaesencia de un viejo organismo que se ha tornado más virulento. En este manuscrito, la epidemiología, el espectro clínico, y la patogénesis de la infección por el GAS se discuten en relación al síndrome de shock tóxico por streptococcus (TSS).

Perspectivas históricas y actuales sobre la Preponderancia y Severidad de las infecciones Streptocócicas

Los diarios Británicos han acuñado recientemente el término «la bacteria come hombre» para describir las infecciones ocasionadas invasivas y necrotizantes producidas por el GAS y han sugerido que epidemias de infección por streptococcus son inminentes. Tal sensacionalismo es improcedente, sin embargo ha servido para aumentar la conciencia pública de esta esporádica pero seria enfermedad infecciosa. Estrictamente hablando, una epidemia se define como un aumento en la prevalencia de la enfermedad sobre una tasa endémica básica. En este contexto, estamos, de hecho, experimentando una epidemia de infecciones severas e invasivas del GAS; sin embargo, pocos datos concretos basados en la presunta población apoyan esta noción. La estimación sugiere que la incidencia de estas infecciones es 10 a 20 casos/100.000 habitantes. Así, el estímulo para tal interés público no ha sido la incidencia del síndrome, sino más probablemente, la naturaleza dramática de estas infecciones.

Si estos tipos de infecciones por *Streptococcus* grupo A declinarán, permanecerán estables o aumentarán no se conoce. La historia está repleta con descripciones de epidemias de infecciones del GAS y sus secuelas no supurativas. En los años 1600, las epidemias de fiebre escarlatina se diseminaron desde Italia y España al norte de Europa (1), y en 1736, ocurrió un brote en las

¹ Dirección para correspondencia:

Infectious Disease Section Veterans Affairs Medical Center, 500 West Fort Street (Bldg 6), Boise, ID 83702, USA, fax: 208-389-7965

colonias Estadounidenses, matando 4.000 personas (2). Importantes epidemias de fiebre reumática ocurrieron en la segunda guerra mundial en militares de EE.UU. (3). Poco tiempo después, la glomerulonefritis estreptocócica golpeó varias regiones de los Estados Unidos (4,5).

Muchas de estas epidemias aumentaron y declinaron antes del advenimiento de los antibióticos, sugiriendo que cambios en las condiciones socio-económicas o variaciones en la expresión de los factores de virulencia por el patógeno fueron los responsables. Este concepto es mejor ejemplificado por el valor extraordinario de la mortalidad por la fiebre escarlatina documentado en la última parte del decenio de 1880 en Nueva York, Chicago, y Noruega; en donde 25% a 30% de los niños con fiebre escarlatina murieron durante ese período (5,6). Por el 1900, la tasa de mortalidad había bajado a menos del 2% en estos tres lugares. Considerando que las condiciones socio-económico probablemente no cambiaron notablemente durante ese tiempo y los antibióticos no estaban aún disponibles, la disminución en la tasa de mortalidad debe haber sido ocasionada por la expresión reducida de un factor de virulencia del estreptococo o por la lenta adquisición de inmunidad grupal a ese factor.

La epidemiología de la infección por GAS es compleja. Existen más de 80 tipos M diferentes de *S. pyogenes* y cinco toxinas de escarlatina distintas y separadas, exotoxinas estreptocócicas pirogénicas (SPES) (5) también han sido descritas; algunas de ellas pueden transmitirse a diferentes tipos M por bacteriófagos. Los cambios menores en las propiedades antigénicas o de virulencia del GAS podrían explicar los ciclos de 5 a 6 años de la fiebre escarlatina documentados por Kohler (9). Del mismo modo como cambian los antígenos en las pandemias por el virus de la influenza, alteraciones mayores en las propiedades de virulencia del GAS podrían ocasionar cambios importantes en la enfermedad clínica. Los aumentos recientes en las infecciones severas del GAS, siguiendo un extensión de 50 a 60 años de enfermedad clínica relativamente benigna, apoyan esta noción.

Las infecciones con riesgo agudo por estreptococo grupo A.

TSS estreptocócica

Recientemente, las infecciones severas e invasivas del GAS asociados con el shock y la falla orgánica han sido informados con frecuencia creciente, predominantemente desde América del Norte y Europa (8-18). Estas infecciones se han llamado síndrome de shock tóxico por streptococcus (TSS; Tabla 1) (19). Personas de todas las edades son afectadas; la mayoría no tienen enfermedades predisponentes subyacen-

tes (11,20-25). Esto contrasta bruscamente con los informes previos de bacteriemia por GAS, en que los pacientes estaban debajo de 10 o por sobre los 60 años de edad, y la mayoría tenían condiciones subyacente tales como cáncer, falla renal, leucemia, o quemaduras severas o recibieron corticosteroides u otras drogas inmunosupresoras (20-22). Las complicaciones de infecciones actuales del GAS son severas; la bacteriemia asociada con la infección agresiva de tejido blando, el shock, el síndrome de angustia respiratoria del adulto y el fallo renal son comunes; 30% a 70% de los pacientes mueren a pesar de los tratamientos agresivos modernos (Tabla 2) (1,8,24-26).

Adquisición del *Streptococcus* grupo A

La puerta de entrada del streptococcus no puede probarse en por lo menos mitad los casos (8) y pueden solamente presumirse en muchos otros. Pacientes con faringitis sintomática rara vez desarrollan TSS streptocócica, aunque tales casos han sido informados, especialmente el año pasado. Procedimientos tales como lipoaspiración, histerectomía, descarga vaginal, y ósteoplasteocentesis han provisto una puerta de entrada en muchos casos (observaciones inéditas de autor). Usualmente, la infección comienza en un sitio de trauma local menor, que frecuentemente no resulta en una lesión en la piel (8). Numerosos casos se han desarrollado dentro de las 24 a 72 horas de un trauma menor no penetrante, resultando en hematoma, lesión profunda en la piel, o aún a la capa muscular. Las infecciones virales, tal como la varicela y la influenza, han

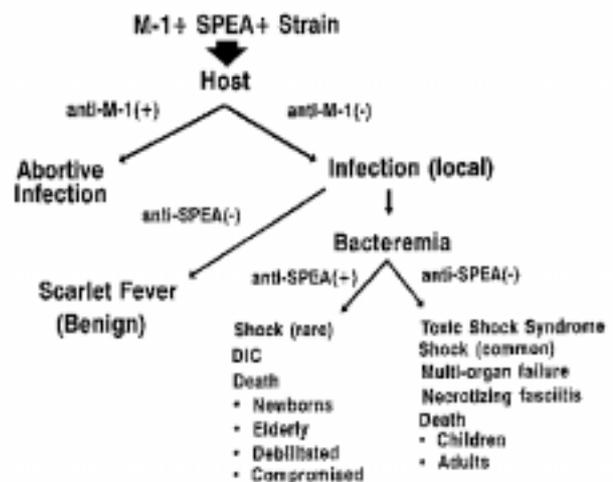


Figura 1. Patogénesis de la fiebre escarlatina, bacteriemia y síndrome de shock tóxico. M-1+ SPEA+ = a cepa GAS que contiene proteína M tipo 1 y exotoxina estreptocócica pirogénica A (SPEA); + anti-1 = la presencia de anticuerpo anti proteína M tipo 1; -anti-M-1 = la ausencia de anticuerpo a la proteína M tipo 1; anti-SPEA+ = anticuerpo a SPEA; y DIC - coagulación intravascular diseminada.

Tabla 1. Definición de caso del síndrome de shock tóxico por streptococcus (TSS Streptocócico) y fascitis necrotizante *

I. TSS Streptocócico

- A. Aislamiento de Streptococcus Grupo A
 - 1. De un sitio estéril
 - 2. De un sitio del cuerpo no estéril
- B. Signos de severidad clínica
 - 1. Hipotensión
 - 2. Anormalidades clínicas y de laboratorio (requieren dos o más de lo siguiente):
 - a) Deterioro renal
 - b) Coagulopatía
 - c) Anormalidades hepáticas
 - d) Síndrome de distress respiratorio agudo
 - e) Necrosis de tejido extensa, i.e., fascitis necrotizante
 - f) Rash eritematoso

Caso Definitivo = A1 + B(1+2)
 Caso Probable = A2 + B(1+2)

II. Fascitis necrotizante

- A. Case Definitivo
 - 1. Necrosis del tejido blando que involucra la fascia MAS
 - 2. Sería enfermedad sistémica, incluyendo una o más de lo siguiente:
 - a) Muerte
 - b) Shock (presión sistólica sanguínea <90 mm de Hg).
 - c) Coagulopatía intravascular diseminada
 - d) Falla de órganos sistémicos
 - a. falla respiratoria
 - b. falla hepática
 - c. falla renal
 - 3. Aislamiento de Streptococcus grupo A de partes del cuerpo normalmente estériles
- B. Caso sospechoso
 - 1. 1+2 y confirmación serológica de una infección por *Streptococcus* grupo A por aumento en 4 veces contra:
 - a) estreptolisina O
 - b) DNAsa B
 - 2. 1+2 y confirmación histológica:
 - Cocos Gram-positivos en tejido infectado necrótico blando

*El Síndrome de Shock tóxico Streptocócico (TSS streptocócico) es definido como cualquier infección por Streptococcus grupo A asociada con un aumento temprano del shock y falla orgánica. Las definiciones que describen los criterios para shock, falla orgánica, casos definitivos y casos probables se describen más adelante.

Fuente: referencia 61.

Tabla 2. Complicaciones de la infección del tejido blando por *Streptococcus* grupo A

Complicación	Porcentaje
Pacientes con Shock	95
Síndrome de angustia respiratoria aguda	55
Deterioro Renal	80
Irreversible	10
Reversible	70
Bacteriemia	60
Muerte	30

Fuente: referencia 1.

brindado una puerta en otros casos. En algunos casos el uso de agentes antiinflamatorios no esteroides pueden haber enmascarado los síntomas iniciales o predispone al paciente a una infección estreptocócica más severa y shock (1). En su mayoría, estas infecciones han ocurrido esporádicamente y no han sido asociadas con grupos de casos o epidemias menores, aunque los brotes de infecciones por GAS severas han ocurrido en ambientes cerrados tal como salas de cuidado de enfermos (27,28).

Síntomas Clínicos

El dolor, síntoma clínico inicial más común de la TSS, es brusco en el inicio y severo, y comúnmente precede a la afección o a hallazgos físicos. El dolor comúnmente involucra una extremidad, pero puede parecerse también a peritonitis, enfermedad inflamatoria pélvica, neumonía, infarto agudo de miocardio, o pericarditis. El veinte por ciento de pacientes tienen un síndrome semejante a la influenza, caracterizado por fiebre, escalofríos, mialgia, náusea, vómitos, y diarrea (8).

La fiebre es el signo clínico inicial más común, aunque la hipotermia puede estar presente en pacientes con shock. La confusión está presente en el 55% de los pacientes, y en algunos, el coma es manifiesto (8). Ochenta por ciento de los pacientes tienen señales clínicas de infección del tejido blando, tal como edema localizado y eritema, que en un 70% de los pacientes progresa a fascitis necrotizante o miositis y requiere debridamiento quirúrgico, fasciotomía o amputación (8). Una señal ominosa es la progresión de la hinchazón del tejido blando a la formación de vesículas, luego vesículas grandes, que aparecen violáceas o azuladas. En tales pacientes, una exploración quirúrgica emergente debería realizarse para establecer el diagnóstico y distinguir la infección por GAS de otras infecciones necrotizantes del tejido blando. Alrededor del 20% de los pacientes no tienen síntomas en tejido blando, los síntomas clínicos incluyen endoftalmítis, miositis, perihepatitis, peritonitis, miocarditis, y sepsis incontrolable. Un difuso eritema, semejante a la escarlatina, ocurre en sólo el 10% de los pacientes. Aproximadamente el 50% de los pacientes pueden tener la presión sanguínea normal (presión sistólica > 110 mm Hg) al ingreso pero desarrolla hipotensión dentro de las subsiguientes 4 horas (8).

Evaluación de laboratorio de los pacientes

En la evaluación de laboratorio de los pacientes al ingreso, el daño renal está indicado por la presencia de hemoglobinuria y por valores de creatinina séricas que están, sobre el promedio, > 2,5 veces del normal. El deterioro renal precede a la hipotensión en el 40% a 50% de los

pacientes (8). La hipoalbuminemia se asocia con hipocalcemia a la admisión y a lo largo del curso de internación. Los niveles de creatinina kinasa sérica es útil para detectar infecciones de tejido blando más profundas; cuando el nivel está elevado o aumenta, hay una buena correlación con fascitis necrotizante o miositis. Aunque los estudios iniciales de laboratorio demuestran sólo una leve leucocitosis, el promedio porcentual de neutrófilos inmaduros (incluyendo las formas en banda, metamielocitos, y mielocitos) son prominentes, alcanzando el 40% a 50%. Los hemocultivos son positivos en el 60% de los casos (8).

Curso clínico

El shock es evidente en el momento de admisión o dentro de las 4 a 8 horas, en virtualmente todos los pacientes (Tabla 2). Sólo el 10% de los pacientes la presión sistólica sanguínea fue normal 4 a 8 horas después de la administración de antibióticos, albúmina, y soluciones electrolíticas conteniendo sales o dopamina; en todos los demás pacientes, el shock persiste. Similarmente, la disfunción renal progresa o persiste en todos los demás pacientes por 48 a 72 horas a pesar del tratamiento, y muchos pueden requerir diálisis (8). En pacientes que sobreviven, los valores de creatinina sérica vuelven a ser normales dentro de 4 a 6 semanas. La disfunción renal precede al shock en muchos pacientes y es, aparentemente, anterior en el curso del shock a todos los demás. El síndrome agudo de angustia respiratoria ocurre en el 55% de los pacientes y generalmente se desarrolla después del inicio de la hipotensión (8). El suplemento de oxígeno, la intubación, y la ventilación mecánica, son necesarias en el 90% de los pacientes en que el síndrome se desarrolla. La tasa de mortalidad varía entre el 30% a 70% (1,8,24-26). La morbilidad es también alta; 13 de 20 pacientes en una serie experimentaron procedimientos quirúrgicos importantes, que incluyeron fasciotomía, debridamiento quirúrgico, laparatomía exploratoria, aspiración intraocular, amputación, o histerectomía (8).

Aislamientos clínicos

Los tipos M 1, 3, 12, y 28 han sido los más comunes en pacientes con shock y falla multiorgánica (8,29). Recientemente, 80% de las cepas en Suecia de todos los tipos de infección por GAS han sido M tipo 1 (S. Holm, com. pers.). La exotoxina pirogénica A y/o B fue encontrada en la mayoría de los casos de infección severa. En los Estados Unidos, la exotoxina pirogénica A es la más frecuentemente asociada con estas infecciones (8,23,29-33), mientras que en Suecia y en el Reino Unido, la exotoxina B ha sido la más común (12,25). Recientemente, un superantígeno de streptococcus (SSA), una nueva exo-

toxina pirogénica, fue aislada de una cepa M 3, aunque en concentraciones pequeñas (34). Además, el factor mitogénico (MF) se ha demostrado en muchos tipos M, diferentes de GAS (35,36).

Fascitis Necrotizante

La fascitis necrotizante, una infección de asentamiento profundo en el tejido subcutáneo, que progresivamente destruye la fascia y grasa pero puede esparcirse a la piel y músculo, puede ser ocasionado por el GAS, *Clostridium perfringens*, o *C. septicum*. La fascitis necrotizante, ocasionada por organismos mixtos tales como bacterias anaeróbicas Gram negativas, anaerobios, y streptococcus microaerofilicos, pueden desarrollarse en pacientes diabéticos o con heridas abiertas contaminadas por contenido intestinal. Aunque Meleney llamó infecciones ocasionadas por el streptococcus hemolítico «gangrena streptocócica» (37), el proceso ha sido renombrado fascitis necrotizante. Las infecciones de sus pacientes comenzaron en un sitio trivial o a partir de un trauma inaparente. Dentro de las 24 horas de la lesión inicial, que frecuentemente fue sólo leve eritema con hinchazón, calor, eritema, y debilidad que desarrolló rápidamente. Durante las próximas 24 a 48 horas, el eritema cambió de rojo a morado y luego a azul, y aparecieron las ampollas y vesículas, que contenían fluido amarillo claro. En los días 4 y 5, las áreas moradas pasaron a ser gangrenosas. Desde el día 7 al 10, la línea de demarcación llegó a estar claramente definida, y la piel muerta comenzó a separarse en los márgenes o se rompía en el centro, revelando una extensa necrosis del tejido subcutáneo. En casos más severos, el proceso avanza rápidamente hasta varias áreas grandes de piel que se tornan gangrenosas, y la intoxicación presenta al paciente insensible, sin respuesta, mentalmente obnubilado, o aún delirante. Meleney fue el primero en promover un agresivo «rasguño de oso» fasciotomía y debridamiento. Con este tratamiento, junto con el riego con solución de Dakains, la tasa de mortalidad bajó al 20% (37).

Estos informes más antiguos de fascitis necrotizante (6) difieren de los corrientes en los casos asociados con TSS streptocócica de fascitis necrotizante (8). Primero, los casos recientes ocurrieron principalmente en personas jóvenes saludables que no tuvieron enfermedad subyacente, pero mantenían un trauma menor en una extremidad. La primer serie describe pacientes más viejos con problemas médicos múltiples (6). Los casos de Meleney (informados desde China) fueron probablemente entre personas jóvenes y saludables que mantuvieron traumas menores, aunque una diferencia importante entre ellos y los casos actuales, es el bajo valor de la mortalidad (20% vs 20% a 60% en TSS streptocócica) (6,37) antes que los antibióticos estuvieran dis-

ponibles (37). El análisis de los informes de Meleney también sugieren que la mayoría de sus pacientes no tuvieron shock o falla orgánica, ni requirieron amputación. En contraste, los casos actuales de fascitis necrotizante ocasionados por el GAS se asocian invariablemente con manifestaciones severas de enfermedad sistémica y alta morbilidad a pesar de la ausencia de enfermedad subyacente y al uso de antibióticos, diálisis, ventiladores, fluidos intravenosos, y técnicas quirúrgicas mejoradas. En resumen, la alta tasa de mortalidad entre los casos actuales de fascitis necrotizante streptocócica podría ser debido a la emergencia de un streptococcus más virulento (8).

Miositis Streptocócica

La miositis streptocócica es una infección del GAS sumamente infrecuente. Adams et al. (38) documentó sólo 21 casos informados desde 1900 a 1985 y Svane (39) encontró sólo cuatro casos en más 20.000 autopsias. El dolor severo puede ser el único síntoma inicial, y el edema y eritema pueden ser los únicos hallazgos físicos al principio, aunque los síndromes de compartimiento de músculo pueden desarrollarse rápidamente (8-10,38-41). Distinguir la miositis streptocócica de la gangrena espontánea gaseosa ocasionada por el *C. perfringens* o el *C. septicum* (42) puede ser difícil, aunque demostrar crepitación o gas en el tejido favorece la infección clostridial (40). Los pacientes con TSS streptocócica pueden tener tanto fascitis necrotizante como miositis (8,38). En la serie publicada, la tasa de caso-fatalidad para fascitis necrotizante es 20% a 50%, considerando que la miositis por GAS tiene un valor de fatalidad de 80% al 100% (6). El debridamiento quirúrgico agresivo es sumamente importante para establecer un diagnóstico y para remover el tejido muerto.

Bacteriemia

La bacteriemia Streptocócica ha ocurrido más asiduamente en personas muy jóvenes y en mayores (5). Entre niños, los factores predisponentes (a excepción de la fiebre escarlatina) se incluyen quemaduras, varicela, neoplasma malignos, inmunosupresión, y edad menor a 2 años (5). En pacientes con fiebre escarlatina, la faringe es la fuente más común de GAS. Frecuentemente tales pacientes tienen complicaciones, como extensión de la infección en los senos, tejido peritonsilar, o mastoides (fiebre escarlatina séptica o fiebre escarlatina anginosa); y ocurre bacteriemia documentada en sólo 0,3% de los pacientes febriles (43). Entre los niños con varicela estudiados por Bullowa y Wischik (43), la bacteriemia por GAS ocurrió en sólo aproximadamente 0,5% de los pacientes.

En pacientes adultos la fuente de la infección del GAS es invariablemente la piel y se asocia con celulitis o erisipelas (5). La sepsis por GAS en los mayores (edad promedio, 50 a 60 años) también ha sido asociada con diabetes, enfermedad vascular periférica, malignidad, y uso de corticosteroides. Sin sorpresa, la tasa de mortalidad del 35% al 80% ha sido descritas en esta población de pacientes. En el pasado, la bacteriemia por GAS era rara entre personas de 14 a 40 años de edad; la sepsis puerperal rendía cuentas de la mayoría de las bacteremias en este grupo etario. Recientemente, el abuso de droga intravenosa ha surgido como un causa predominante de bacteriemia por GAS en esta grupo etario (5). Martin y Hoiby han demostrado comprensivamente que la preponderancia de la bacteriemia por GAS en Noruega en los finales del decenio de 1980 aumentó en todos los grupos de distintas edades, pero el mayor aumento (600% a 800%) estuvo en adolescentes y adultos jóvenes (10). Así, la infección estreptocócica invasiva ha cambiado la demografía dramáticamente en los pasados 4 a 6 años.

Hipótesis actuales del mecanismo de shock y de la destrucción de tejido causadas por el streptococcus grupo A

La exotoxina pirogénica causa fiebre en humanos y animales y también ayuda a inducir el shock al bajar el umbral a la endotoxina exógena (5). La exotoxina pirogénica de estreptococos A y B induce a las células mononucleares humanas a sintetizar no solamente factor de necrosis tumoral- α (TNF α) (44) sino también interleuquina- β (IL-1 β) (45) e interleuquina-6 (IL-6) (45), sugiriendo que TNF α puede mediar la fiebre, shock, y el daño de tejido observado en pacientes con TSS estreptocócico (8). La exotoxina pirogénica C ha sido asociada con casos leves de fiebre escarlatina en los Estados Unidos (observaciones del autor) y en Inglaterra (46). Los roles de dos exotoxinas pirogénicas nuevamente descritas, SSA y MF (ver sección sobre «Aislamientos Clínicos»), en TSS estreptocócica no han sido elucidados.

La proteína M contribuye a la invasividad mediante su capacidad para impedir la fagocitosis de los Streptococcus por los leucocitos polimorfonucleares humanos (47). Por el contrario, el anticuerpo tipo-específico contra la proteína M mejora la fagocitosis (47). Después de la infección con un tipo M particular, el anticuerpo específico confiere resistencia para desafiar al GAS viable de ese tipo de M (47). Mientras las cepas M tipos 1 y 3 han rendido cuentas de la mayoría de las cepas aisladas de casos de TSS estreptocócica, muchos otros tipos de M, incluyendo algunas

cepas no tipificables, han sido también aisladas de tales casos. Los tipos M 1 y 3 son asimismo usualmente aislados de portadores asintomáticos, pacientes con faringitis, y pacientes con fiebre escarlatina leve (7,29).

¿Puede el TSS estreptocócico estar relacionado con la capacidad de la exotoxina pirogénica o proteínas M tipo 1 o 3 para actuar como «super antígeno» (48)? Los datos sugieren que esta exotoxina y un número de toxinas estafilocócicas (síndrome de shock tóxico por toxina-1 (TSST-1) y enterotoxinas stafilocócicas A, B, y C) pueden estimular las respuestas de las células T mediante su capacidad para combinarse con la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, con capacidad de células presentadoras de antígeno y la región V β del receptor de células T (48). El efecto neto sería para inducir la estimulación de las células T con la producción de citoquinas capaces de mediar el shock y dañar el tejido. Recientemente, Hackett y Stevens demostraron que las exotoxinas A pirogénica inducen TNF α y TNF β de cultivos mixtos de monocitos y linfocitos (49), apoyando el papel de las linfoquinas (TNF β) en el shock asociadas con cepas que producen esa exotoxina. Kotb et al. (50) han demostrado que un digerido de proteína M tipo 6 puede también estimular las respuestas de las células T por este mecanismo; sin embargo, el papel de los superantígenos específicos en ésta o en cualquier otra enfermedad infecciosa no ha sido probada. La prueba requeriría la demostración de la expansión masiva de subconjuntos de células T que sostienen un repertorio de V β específico para el superantígeno sustituto. Sin embargo, la cuantificación de tales subconjuntos de T-cell en pacientes con TSS estreptocócica aguda demostraron la eliminación más que la expansión, sugiriendo que quizás el trecho de vida del subconjunto expandido fue acortado por un proceso de apoptosis (51). Además, los subconjuntos eliminados no fueron específicos para las exotoxinas estreptocócicas pirogénicas A, B, C, o el factor mitogénico, sugiriendo que hasta ahora un superantígeno indefinido puede jugar un papel (51).

La producción de citoquinas por mecanismos exóticos probablemente contribuyen también a la génesis del shock y a la falla orgánica. El peptidoglucano, el ácido lipoteicoico (52), y los microorganismos muertos (53,54) son capaces de inducir la producción de TNF α por las células mononucleares *in vitro* (6,54,55). Las exotoxinas tales como la streptolisina O (SLO) son también potentes inductores de TNF α e IL-1 β . La exotoxina pirogénica B, un precursor de proteína, tiene la capacidad para clivar la pre-IL-1 β para liberar IL-1 β preformada (56). Finalmente, la SLO y la exotoxina A juntas tienen efectos aditivos en la instalación de la IL-1 β por las células mononucleares humanas (49). Cualquiera de los

mecanismos con inducción de citoquinas *in vivo* son la causa probable del shock, y estas dos exotoxinas, los componentes de pared celular y otros semejantes, son potentes inductores de TNF e IL-1.

La mera presencia de factores de virulencia, tal como la proteína M o las exotoxinas pirogénicas, pueden ser menos importantes en el TSS streptocócico que la dinámica de su producción *in vivo*. Recientemente, Cleary et al. propusieron un regulon en el GAS que controla la expresión de un grupo de genes de virulencia que codifican para los factores de virulencia conocidos como proteína M y peptidasa C5 (57). Cuando fue usado el fingerprinting de DNA, se mostraron las diferencias entre las cepas M1 aisladas de pacientes con enfermedad invasiva y las cepas de pacientes con infecciones no invasivas de GAS (58). Finalmente, la información genética que codifica para las exotoxinas A o C pueden introducirse en cepas de GAS por ciertos bacteriófagos; después de la conversión lisogénica, la síntesis de exotoxina A ocurre durante el crecimiento del estreptococo (31,59,60). La electroforesis enzimática multifocal demuestra dos modelos que corresponden a los organismos tipos M1 y M3 que producen exotoxina A pirogénica; hallazgo que apoya los estudios epidemiológico implicando a estas cepas en infecciones invasivas de GAS (33).

La interacción entre estos factores de virulencia microbiana y un huésped inmune o no inmune, determinan la epidemiología, síndrome clínico, y resultados. Desde que la transmisión horizontal del GAS en general está bien documentada, la única explicación para la ausencia de un valor alto de ataque de infección invasiva es la importante inmunidad de masa contra uno o más factores de virulencia responsables para la TSS streptocócica. Este modelo hipotético explica por qué las epidemias no se han materializado y por qué una cepa particular de GAS puede ocasionar manifestaciones clínicas diferentes en la misma comunidad (8,61) (Figura 1).

Tratamiento

Terapia antibiótica cura y fallas con Penicilina

S. pyogenes continúa siendo exquisitamente susceptible a los antibióticos β -lactámicos y numerosos estudios han demostrado la eficacia clínica de las preparaciones de penicilina para la faringitis streptocócica. Similarmente, las penicilinas y las cefalosporinas han probado su eficacia en el tratamiento de la erisipela, el impétigo, y la celulitis, todos los cuales son con mayor frecuencia ocasionados por *S. pyogenes*. Además, Wannamaker et al. (6) demostraron que esa terapia penicilínica previene el desarrollo de la fiebre reumática que sigue a la faringitis streptocócica, si la terapia se inicia dentro de los

8 a 10 días de la iniciación de dolor de garganta. Sin embargo, ocurren algunos fracasos clínicos en el tratamiento con penicilina. El tratamiento con penicilina de *S. pyogenes* ha fallado en erradicar bacterias de la faringe en el 5% al 20% de pacientes con faringitis streptocócica documentada (62-64). Además, las infecciones de GAS más agresivo (tales como, la fascitis necrotizante, el empiema, las sepsis por herida de quemadura, la gangrena subcutánea y la miositis) responden menos a la penicilina y continúan asociadas con una alta tasa de mortalidad y extensa morbilidad (6,8,9,12,15,38,65). Por ejemplo, en un informe reciente, 25 casos de miositis streptocócicas tuvieron un valor total de mortalidad del 85%, a pesar de la terapia con penicilina (38). Finalmente, varios estudios en infecciones experimentales sugieren que la penicilina falla cuando un gran número de microorganismos están presentes (66,67).

La Eficacia de la Penicilina, Comparada a la Clindamicina, en la infección experimental fulminante por *S. pyogenes*

En un modelo ratón de miositis, ocasionado por *S. pyogenes*, la penicilina fue ineficaz cuando el tratamiento se demoró hasta 2 horas después de iniciada la infección (67). La sobrevivencia de ratones tratados con eritromicina fue mayor que en los tratados con penicilina y que los ratones controles sin tratar; pero sólo si el tratamiento comenzó dentro de las 2 horas. Los ratones que reciben clindamicina, sin embargo, tuvieron tasas de sobrevivencia de 100%, 100%, 80%, y 70%, aun cuando el tratamiento se demoró 0, 2, 6, y 16.5 horas, respectivamente (67,68).

Eagle sugirió que la penicilina falló en este tipo de infección a causa del «estado fisiológico del organismo» (66). Este fenómeno ha sido recientemente atribuido a efectos de inóculo tanto *in vitro* y como *in vivo* (69,70).

El tamaño del inóculo y el «Estado fisiológico del organismo»: Expresión diferencial de las proteínas combinadas de penicilina

La penicilina y otros antibióticos β -lactámicos son más eficaces contra bacterias de crecimiento rápido. Hemos hipotetizado que grandes inóculos alcanzan la fase estacionaria de crecimiento más rápido que cuando el inóculo es menor, tanto *in vitro* como *in vivo*. Eagle et al., apoyan los datos que altas concentraciones de *S. pyogenes* se acumulan en infecciones profundas (66). Nosotros comparamos los modelos de penicilina-combinada a proteína de las proteínas de membrana de *Streptococcus* grupo A aisladas de diferentes etapas de crecimiento, p. ej., fase medio-logarítmica y fase estacionaria. La combinación de la penicilina radioactiva a través de

todas sus proteínas combinantes se vio disminuida en células estacionarias; sin embargo, PBPs 1 y 4 no fueron detectables a las 36 horas (69). Así, la pérdida de ciertas proteínas combinantes de penicilina durante la fase estacionaria de crecimiento *in vitro* puede ser responsable del efecto inóculo observado *in vivo* y puede ser responsable de la falla de la penicilina en el tratamiento de casos humanos y experimentales de infecciones estreptocócicas severas.

La eficacia mayor de la Clindamicina en Infecciones de *S. pyogenes* experimental: Mecanismos de Acción

La mayor eficacia de la clindamicina probablemente es multifactorial: primero, su eficacia no es afectada por el tamaño del inóculo o la etapa de crecimiento (69,71); segundo, la clindamicina es un potente supresor de la síntesis de toxina bacteriana (72,73); tercero, facilita la fagocitosis del *S. pyogenes* por inhibir la síntesis de proteína M (73); cuarto, suprime la síntesis de proteínas ligadas a la penicilina que, además de ser blancos para la penicilinasas, son también enzimas involucradas en la síntesis y degradación de la pared celular (71); quinto, la clindamicina tiene un efecto pos antibiótico más largo que los β -lactámicos, tal como la penicilina; y finalmente, la clindamicina produce supresión de la síntesis de TNF por los monocitos inducida por LPS (74). Así, la eficacia de la clindamicina puede también relacionarse con su capacidad para modular la respuesta inmune.

Otras Medidas de Tratamiento

Aunque la selección de antibióticos es críticamente importante, otras medidas, tales como la pronta y agresiva exploración y debridamiento de las sospechas de infecciones profundas por *S. pyogenes*, son mandatorias. Frecuentemente, el paciente tiene fiebre y dolor agudísimo. Luego, se desarrolla toxicidad sistémica, y aparece la evidencia definitiva de fascitis necrotizante y miositis. El debridamiento quirúrgico puede ser demasiado tarde a esta altura. La exploración quirúrgica puntual mediante una incisión pequeña con la visualización de músculo y la fascia, y la oportuna tinción de Gram del material obtenido quirúrgicamente, puede proveer un diagnóstico etiológico temprano y definitivo. Los colegas cirujanos deberían involucrarse en forma temprana en tales casos, ya que tardíamente en el curso de la intervención quirúrgica puede ser imposible a causa de la toxicidad o porque la infección se ha extendido a áreas vitales imposibles para desbridar (p. ej., cabeza y cuello, tórax, o abdomen).

Los informes anecdóticos sugieren que el oxígeno hiperbárico han sido usado en un puñado de pacientes, aunque ningún estudio contro-

lado está en marcha, ni es claro si este tratamiento es útil.

A causa de la hipotensión intratable y el escape capilar difuso, son frecuentemente necesarias cantidades masivas de fluidos intravenosos (10 a 20 litros/día). Presores tales como dopamina se usan frecuentemente, aunque ningún ensayo controlado se ha desempeñado en TSS estreptocócica. En pacientes con hipotensión intratable, los vasoconstrictores tales como la epinefrina, han sido usados; pero la gangrena simétrica de los dedos parecen resultar frecuentes (observaciones inéditas de autor), por lo común con pérdida de extremidad. En este caso es difícil determinar si la gangrena simétrica se debe a los presores, infección, o a ambos.

La neutralización de toxinas circulantes sería deseable; sin embargo, los anticuerpos apropiados no están comercialmente disponibles en los Estados Unidos o Europa. Dos informes describen el uso exitoso de gamma globulina intravenosa en el tratamiento de dos pacientes con TSS estreptocócica (75,76).

En resumen, si una salvaje «cepa come-hombre» ha emergido recientemente, una epidemia importante con una alta tasa de ataque sería de esperar normalmente. Claramente, las epidemias por infecciones estreptocócicas, incluyendo el impétigo, la faringitis, la fiebre escarlatina, y la fiebre reumática, han ocurrido en el pasado. Sin embargo, en el último decenio, subsiguientes a los informes iniciales de TSS estreptocócica, hemos observado que la incidencia ha permanecido relativamente baja. Mi hipótesis es que no han ocurrido grandes brotes porque 1) la mayoría de la población probablemente tiene inmunidad a uno o más factores de virulencia estreptocócicas (6,25); 2) las condiciones predisponentes (p. ej., varicela, y el uso de NSAIDs) se requieren en un paciente determinado; y 3) sólo un porcentaje pequeño de la población puede tener una predisposición inherente a una infección estreptocócica severa a causa de factores constitucionales, tal como HLA Clase II del tipo de antígeno HLA (77,78), B-cell (79), o regiones Vb específico sobre linfocitos. Esta última hipótesis es además apoyada por la observación que los casos secundarios de TSS estreptocócica, que aunque informados (80), han sido raros.

El Dr. Stevens es Jefe de Infectious Diseases Section, Veterans Affairs Medical Center, Boise, Idaho, y Profesor de medicina, University of Washington School of Medicine, Seattle. Es un miembro del CDC's Working Group on Streptococcal Infections y consultor del National Institutes of Health y la World Health Organization on Streptococcal Infections. En Julio de 1994, testificó ante el Congreso sobre Infecciones Streptocócicas Severas y actualmente es Presidente del American Lancefield Society.

Referencias

1. Stevens DL, Tanner MH, Winship J, Swartz R, Reis KM, Schlievert PM, et al. Reappearance of scarlet fever toxin A among streptococci in the Rocky Mountain West: severe group A streptococcal infections associated with a toxic shock-like syndrome. *N Engl J Med* 1989; 321:1-7.
2. The Working Group on Severe Streptococcal Infections. Defining the group A streptococcal toxic shock syndrome: rationale and consensus definition. *JAMA* 1993; 269:390-1.
3. Sennert D. De febribus libri quator. Editio novissima. Cui accessit fasciculus medicamentorum contra pestem. Libri IV. De peste, Pestilentibusque ac Malingis Febribus. Venice: Franciscum Baba, 1641.
4. Douglass W. The practical history of a new epidemical eruptive miliary fever, with an Angina Ulcusculosa, which prevailed in Boston, New England in the years 1735 and 1736. Boston: T. Fleet, 1736.
5. Dillon HC. Impetigo contagiosa: suppurative and nonsuppurative complication. Clinical, bacteriologic and epidemiologic characteristics of impetigo. *Am J Dis Child* 1968; 115:530-41.
6. Wannamaker LW, Rammelkamp CH, Jr., Denny FW, Brink WR, Houser HB, Hahn EO, et al. Prophylaxis of acute rheumatic fever by treatment of the preceding streptococcal infection with various amounts of depot penicillin. *Am J Med* 1951; 10:673-95.
7. Weaver GH. Scarlet Fever. In: Abt IA, ed., Pediatrics. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1925:298-362.
8. Stevens DL. Invasive group A streptococcus infections. *Clin Infect Dis* 1992; 14:2-13.
9. Kohler W, Gerlach D, Knoll H. Streptococcal outbreaks and erythrogenic toxin type A. *Zbl Bakt Hyg* 1987; 266:104-15.
10. Martin PR, Hoiby EA. Streptococcal serogroup A epidemic in Norway 1987-1988. *Scand J Infect Dis* 1990; 22:421-9.
11. Holm S. Fatal group A streptococcal infections. Presented at the 89th Conference of the American Society for Microbiology, New Orleans, LA, 1989.
12. Wheeler MC, Roe MH, Kaplan EL, Schlievert PM, Todd JK. Outbreak of group A streptococcus septicemia in children: clinical, epidemiologic, and microbiological correlates. *JAMA* 1991; 266:553-7.
13. Gaworzewska ET, Coleman G. Correspondence: group A streptococcal infections and a toxic shock-like syndrome. *N Engl J Med* 1989; 321:1546.
14. Schwartz B, Facklam R, Breiman R. The changing epidemiology of group A streptococcal infections in the U.S.: association with changes in serotype. Presented at the 30th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Atlanta, GA, 1990; Abstract 88.
15. Bartter T, Dascal A, Carroll K, Curley FJ. «Toxic strep syndrome»: manifestation of group A streptococcal infection. *Arch Intern Med* 1988; 148:1421-4.
16. Hribalova V. *Streptococcus pyogenes* and the toxic shock syndrome. *Ann Intern Med* 1988; 108:772.
17. Greenberg RN, Willoughby BG, Kennedy DJ, Otto TJ, McMillian R, Bloomster TG. Hypocalcemia and «toxic» syndrome associated with streptococcal fasciitis. *South Med J* 1983; 76:916-8.
18. Jackson MA, Olson LC, Burry VF. Pediatric group A streptococcal (GAS) disease with multi-organ dysfunction. Presented at the 30th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Atlanta, GA, 1990; Abstract 195.
19. Thomas JC, Carr SJ, Fujioka K, Waterman SH. Community-acquired group A streptococcal deaths in Los Angeles County. *J Infect Dis* 1989; 160:1086-7.
20. Francis J, Warren RE. *Streptococcus pyogenes* bacteraemia in Cambridge: a review of 67 episodes. *Q J Med* 1988; 256:603-13.
21. Barnham M. Invasive streptococcal infections in the era before the acquired immune deficiency syndrome: a 10 years' compilation of patients with streptococcal bacteraemia in North Yorkshire. *J Infect Dis* 1989; 18:231-48.
22. Braunstein H. Characteristics of group A streptococcal bacteremia in patients at the San Bernardino County Medical Center. *Rev Infect Dis* 1991; 13:8-11.
23. Schwartz B, Facklam RR, Brieman RF. Changing epidemiology of group A streptococcal infection in the USA. *Lancet* 1990; 336:1167-71.
24. Holm SE, Norrby A, Bergholm AM, Norgren M. Aspects of pathogenesis of serious group A streptococcal infections in Sweden, 1988-1989. *J Infect Dis* 1992; 166:31-7.
25. Stegmayr B, Bjorck S, Holm S, Nisell J, Rydval A, Settergren B. Septic shock induced by group A streptococcal infections: clinical and therapeutic aspects. *Scand J Infect Dis* 1992; 24:589-97.
26. Demers B, Simor AE, Vellend H, Schlievert PM, Byrne S, Jamieson F, et al. Severe invasive group A streptococcal infections in Ontario, Canada: 1987-1991. *Clin Infect Dis* 1993; 16:792-800.
27. Auerbach SB, Schwartz B, Facklam RR, Breiman R, Jarvis WR. Outbreak of invasive group A streptococcal (GAS) disease in a nursing home. Presented at the 30th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Atlanta, GA, 1990; Abstract 171.
28. Hohenboken JJ, Anderson F, Kaplan EL. Invasive group A streptococcal (GAS) serotype M-1 outbreak in a long-term care facility (LTCF) with mortality. Presented at the 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Orlando, FL, 1994; Abstract J189.
29. Johnson DR, Stevens DL, Kaplan EL. Epidemiologic analysis of group A streptococcal serotypes associated with severe systemic infections, rheumatic fever, or uncomplicated pharyngitis. *J Infect Dis* 1992; 166:374-82.
30. Belani K, Schlievert P, Kaplan E, Ferrieri P. Association of exotoxin-producing group A streptococci and severe disease in children. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10:351-4.
31. Hauser AR, Goshorn SC, Kaplan E, Stevens DL, Schlievert PM. Molecular analysis of the streptococcal pyrogenic exotoxins. Presented at the Third International American Society for Microbiology Conference on Streptococcal Genetics. Minneapolis, MN, 1990.
32. Hauser AR, Stevens DL, Kaplan EL, Schlievert PM. Molecular analysis of pyrogenic exotoxins from *Streptococcus pyogenes* isolates associated with toxic shock-like syndrome. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1562-7.
33. Musser JM, Hauser AR, Kim MH, Schlievert PM, Nelson K, Selander RK. *Streptococcus pyogenes* causing toxic-shock-like syndrome and other invasive diseases: clonal diversity and pyrogenic exotoxin expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:2668-72.
34. Mollick JA, Miller GG, Musser JM, Cook RG, Grossman D, Rich RR. A novel superantigen isolated from pathogenic strains of *Streptococcus pyogenes* with aminoterminal homology to staphylococcal enterotoxins B and C. *J Clin Invest* 1993; 92:710-9.
35. Iwasaki M, Igarashi H, Hinuma Y, Yutsudo T. Cloning, characterization and overexpression of a *Streptococcus pyogenes* gene encoding a new type of mitogenic factor. *FEBS Lett* 1993; 331:187-92.
36. Norrby-Teglund A, Newton D, Kotb M, Holm SE, Norgren M. Superantigenic properties of the group A streptococcal exotoxin SpeF (MF). *Infect Immun* 1994; 62:5227-35.
37. Meleney FL. Hemolytic *Streptococcus gangrene*. *Arch Surg* 1924; 9:317-64.
38. Adams EM, Gudmundsson S, Yocum DE, Haselby RC, Craig WA, Sundstrom WR. Streptococcal myositis. *Arch Intern Med* 1985; 145:1020-3.
39. Svane S. Peracute spontaneous streptococcal myositis: a report on 2 fatal cases with review of literature. *Acta Chir Scand* 1971; 137:155-63.
40. Yoder EL, Mendez J, Khatib R. Spontaneous gangrenous myositis induced by *Streptococcus pyogenes*: case report and review of the literature. *Rev Infect Dis* 1987; 9:382-5.
41. Nather A, Wong FY, Balasubramaniam P, Pang M. Streptococcal necrotizing myositis a rare entity: a report of two cases. *Clin Orthop* 1987; 215:206-11.
42. Stevens DL, Musher DM, Watson DA, Eddy H, Hamill RJ, Gyorkey F, Rosen H, et al. Spontaneous, nontraumatic gangrene due to *Clostridium septicum*. *Rev Infect Dis* 1990; 12:286-96.

43. Bullowa JGM, Wischik S. Complications of varicella. I: their occurrence among 2,534 patients. *Am J Dis Child* 1935;49:923-6.
44. Fast DJ, Schlievert PM, Nelson RD. Toxic shock syndrome-associated staphylococcal and streptococcal pyrogenic toxins are potent inducers of tumor necrosis factor production. *Infect Immun* 1989; 57:291-4.
45. Hackett SP, Schlievert PM, Stevens DL. Cytokine production by human mononuclear cells in response to streptococcal exotoxins. *Clin Res* 1991; 39:189A.
46. Hallas G. The production of pyrogenic exotoxins by group A streptococci. *J Hyg (Camb)* 1985; 95:47-7.
47. Lancefield RC. Current knowledge of type specific M antigens of group A streptococci. *J Immunol* 1962; 89:307-13.
48. Mollick JA, Rich RR. Characterization of a superantigen from a pathogenic strain of *Streptococcus pyogenes*. *Clin Res* 1991; 39:213A.
49. Hackett SP, Stevens DL. Streptococcal toxic shock syndrome: synthesis of tumor necrosis factor and interleukin-1 by monocytes stimulated with pyrogenic exotoxin A and streptolysin O. *J Infect Dis* 1992; 165:879-85.
50. Kotb M, Tomai M, Majumdar G, Walker J, Beachey EH. Cellular and biochemical responses of human T lymphocytes stimulated with streptococcal M protein. Presented at the 11th Lancefield International Symposium on Streptococcal Diseases, Siena, Italy, 1990; Abstract L77.
51. Watanabe-Ohnishi R, Low DE, McGeer A, Stevens DL, Schlievert PM, Newton D, et al. Selective depletion of Vb-bearing T cells in patients with severe invasive group A streptococcal infections and streptococcal toxic shock syndrome. *J Infect Dis* 1995; 171:74-84.
52. Stevens DL, Bryant AE, Hackett SP. Gram-positive shock. *Curr Opin Infect Dis* 1992; 5:555-63.
53. Hackett S, Ferretti J, Stevens D. Cytokine induction by viable group A streptococci: suppression by streptolysin O. Presented at the 93rd Conference of the American Society for Microbiology, Las Vegas, NV, 1994; Abstract B-249.
54. Muller-Alouf H, Alouf JE, Gerlach D, Ozegowski JH, Fitting C, Cavaillon JM. Comparative study of cytokine release by human peripheral blood mononuclear cells stimulated with *Streptococcus pyogenes* superantigenic erythrogenic toxins, heat-killed streptococci and lipopolysaccharide. *Infect Immun* 1994; 62:4915-21.
55. Hackett SP, Stevens DL. Superantigens associated with staphylococcal and streptococcal toxic shock syndromes are potent inducers of tumor necrosis factor beta synthesis. *J Infect Dis* 1993; 168:232-5.
56. Kappur V, Majesky MW, Li LL, Black RA, Musser JM. Cleavage of Interleukin 1B (IL-1B) precursor to produce active IL-1B by a conserved extracellular cysteine protease from *Streptococcus pyogenes*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:7676-80.
57. Cleary R, Chen C, Lapenta D, Bormann N, Heath D, Haanes E. A virulence regulon in *Streptococcus pyogenes*. Presented at the Third International American Society for Microbiology Conference on Streptococcal Genetics, Minneapolis, MN, 1990; Abstract 19.
58. Cleary PP, Kaplan EL, Handley JP, Wlazlo A, Kim MH, Hauser AR, et al. Clonal basis for resurgence of serious *Streptococcus pyogenes* disease in the 1980s. *Lancet* 1992; 339:518-21.
59. Nida SK, Ferretti JJ. Phage influence on the synthesis of extracellular toxins in group A streptococci. *Infect Immun* 1982; 36:745-50.
60. Johnson LP, Tomai MA, Schlievert PM. Bacteriophage involvement in group A streptococcal pyrogenic exotoxin A production. *J Bacteriol* 1986; 166:623-7.
61. Stevens DL. Invasive group A streptococcal infections: the past, present and future. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13:561-6.
62. Kim KS, Kaplan EL. Association of penicillin tolerance with failure to eradicate group A streptococci from patients with pharyngitis. *J Pediatr* 1985; 107:681-4.
63. Gatanaduy AS, Kaplan EL, Huwe BB, McKay C, Wannamaker LW. Failure of penicillin to eradicate group A streptococci during an outbreak of pharyngitis. *Lancet* 1980; 2:498-502.
64. Brook I. Role of beta-lactamase-producing bacteria in the failure of penicillin to eradicate group A streptococci. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4:491-5.
65. Kohler W. Streptococcal toxic shock syndrome. *Zbl Bakt* 1990; 272:257-64.
66. Eagle H. Experimental approach to the problem of treatment failure with penicillin. I. Group A streptococcal infection in mice. *Am J Med* 1952; 13:389-9.
67. Stevens DL, Gibbons AE, Bergstrom R, Winn V. The Eagle effect revisited: efficacy of clindamycin, erythromycin, and penicillin in the treatment of streptococcal myositis. *J Infect Dis* 1988; 158:23-8.
68. Stevens DL, Bryant AE, Yan S. Invasive group A streptococcal infection: new concepts in antibiotic treatment. *Int J Antimicrob Agents* 1994; 4:297-301.
69. Stevens DL, Yan S, Bryant AE. Penicillin-binding protein expression at different growth stages determines penicillin efficacy in vitro and in vivo: an explanation for the inoculum effect. *J Infect Dis* 1993; 167:1401-5.
70. Yan S, Mendelman PM, Stevens DL. The in vitro antibacterial activity of ceftriaxone against *Streptococcus pyogenes* is unrelated to penicillin-binding protein 4. *FEMS Microbiol Lett* 1993; 110:313-18.
71. Yan S, Bohach GA, Stevens DL. Persistent acylation of high-molecular weight penicillin-binding proteins by penicillin induces the post-antibiotic effect in *Streptococcus pyogenes*. *J Infect Dis* 1994; 170:609-14.
72. Stevens DL, Maier KA, Mitten JE. Effect of antibiotics on toxin production and viability of *Clostridium perfringens*. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31:213-8.
73. Gemmell CG, Peterson PK, Schmeling D, Kim Y, Mathews J, Wannamaker L, et al. Potentiation of opsonization and phagocytosis of *Streptococcus pyogenes* following growth in the presence of clindamycin. *J Clin Invest* 1981; 67:1249-56.
74. Stevens DL, Bryant AE, Hackett SP. Antibiotic effects on bacterial viability, toxin production and host response. *Clin Infect Dis* 1995;20(Suppl 2):S154-7.
75. Barry W, Hudgins L, Donta ST, Pesanti EL. Intravenous immunoglobulin therapy for Toxic shock syndrome. *JAMA* 1992; 267(24):3315-6.
76. Yong JM. Letter. *Lancet* 1994; 343:1427.
77. Greenberg LJ, Gray ED, Yunis E. Association of HL-A5 and immune responsiveness in vitro to streptococcal antigens. *J Exp Med* 1975; 141:934-43.
78. Weinstein L, Barza M. Gas gangrene. *N Engl J Med* 1972; 289:1129.
79. Zabriskie JB, Lavenchy D, Williams RCJ, et al. Rheumatic fever associated B-cell alloantigens as identified by monoclonal antibodies. *Arthritis Rheum* 1985; 28:1047-51.
80. Schwartz B, Elliot JA, Butler JC, Simon PA, Jameson BL, Welch GE, et al. Clusters of invasive group A streptococcal infections in family, hospital, and nursing home settings. *Clin Infect Dis* 1992; 15:277-84.

Bacterias espiraladas en el Estómago Humano: Helicobacter Gástrico

Andre Dubois, M.D., Ph.D.²

*Digestive Diseases Division, Department of Medicine,
Uniformed Services University of the Health Sciences Bethesda, Maryland, USA*

Durante la década pasada, el Helicobacter pylori llegó a ser reconocido como uno de los patógenos humanos más comunes, colonizador de la mucosa gástrica de casi todas las personas expuestas a condiciones higiénicas pobres desde la niñez. También se encuentra habitualmente, aunque con una frecuencia menor, en grupos de condición socio-económica alta. H. pylori ocasiona gastritis activa crónica y es un factor importante en la patogénesis de las úlceras duodenales y, en menor alcance, úlceras gástricas. Además, la presencia de esta bacteria se reconoce ahora como un factor de riesgo para el adenocarcinoma gástrico y el linfoma. No obstante, la mayoría de las infecciones aparecen sin consecuencias clínicas. En esta segunda década de investigación intensiva, es importante comprender por qué el H. pylori es a veces un patógeno peligroso, y para determinar como puede erradicarse en esos el riesgo altísimo de enfermedad severa.

Al final del siglo XIX, varios tipos de spirochaetas y espirilos se observaron por primera vez en el estómago de animales (1,2). Al principio del siglo XX, bacterias espirales similares se encontraron en especímenes de gastrectomías de pacientes con cáncer gástrico y enfermedad de úlcera péptica (3,4). Además, los gastroenterólogos y los cirujanos notaron pero no podían explicar la casi presencia universal de gastritis antral en pacientes con úlceras duodenales y la presencia frecuente de gastritis atrófica en pacientes con cáncer y úlcera gástrica. No obstante, la posibilidad que la enfermedad de úlcera péptica o el cáncer gástrico podría ser ocasionado por un agente infeccioso fue generalmente desatendida. La observación hecha en 1975 en que bacterias Gram negativas estuvieron presentes en el 80% de pacientes con úlcera gástrica (5) fue ignorada principalmente por la comunidad científica que, en ese momento, diligentemente desarrollaron potentes agentes antiulcerosos (6). El escepticismo prevaleció a la reacción abrumadora de los informes de 1983 que describen la asociación frecuente entre la gastritis antral y la presencia de bacterias Campylobacter-like (7), así como también de su cultivo y aislamiento de pacientes con gastritis (8). Una reacción similar siguió a la demostración subsiguiente que estas bacterias Campylobacter-like estaban presentes en casi todos los pacientes con úlceras gástricas y duodenal, y se asociaron generalmente con gastritis

antral (9). En la década pasada, sin embargo, un número de estudios ha confirmado y extendido estas observaciones iniciales. Un consenso que observa el importante papel de esta bacteria, ahora llamada *Helicobacter pylori*, en ocasionar ulceración gastroduodenal se presentó formalmente en 1994 (10). Además, en Junio de 1994, la International Agency for Research on Cancer Working Group afirmó, «*H. pylori* juega un papel causal en la cadena de sucesos que conducen al cáncer,» refiriendo al adenocarcinoma y al linfoma de estómago así como también a los más benignos tejidos linfoide asociados a la mucosa (MALT) (11-13).

Una consecuencia importante del considerable interés generada por estas observaciones clínicas es que estudios bacteriológicos y moleculares extensivos se han realizado en esta bacteria y organismos similares. El análisis de la secuencia del gen 16S rRNA ha revelado diferencias importantes entre el *H. pylori* y los géneros estrechamente conexos, *Campylobacter*, *Flexispira*, y *Wolinella*. Estas diferencias han necesitado la creación del género *Helicobacter*, que, hoy día, incluye ocho especies gástricas, tres intestinales, y dos hepáticas (14). Cada uno de estas especies de *Helicobacter* colonizan diferentes especies mamíferas o un espectro de éstas.

Esta revisión resume nuestro conocimiento actual de dos especies de *Helicobacter* que han sido observadas en el estómago humano e informadas extensamente en la literatura: *H. pylori*, la cepa de tipo, y *H. heilmannii*, también conocido como *Gastrospirillum hominis* (15,16).

²Dirección para correspondencia:

Andre Dubois, Department of Medicine, Uniformed Services University, 4301 Jones Bridge Road, Bethesda, MD 20814-4799, USA; fax: 301-295-3676 or -3557; e-mail dubois@usuhsb.usuhs

Características de los Helicobacter gástricos observados en humanos

H. pylori, una bacteria Gram negativa con forma curva, espiral, o en forma alargada, mide 2,5 a 3,5 μm de longitud y 0,5 a 1,0 μm de diámetro y tiene una periodicidad de 1 a 2 μm . Tiene superficie lisa, y uno a seis flagelos polares envueltos que emergen de uno de sus extremos redondeados. Desde que es morfológicamente parecido al *C. jejuni*, se lo llamó inicialmente «*Campylobacter* pilórico» y subsecuentemente *C. pyloridis* y *C. pylori* antes de ser finalmente nombrado *H. pylori*. Este organismo coloniza sólo la mucosa no secretora de ácido del estómago y no se encuentra en donde las células parietales son numerosas. Así, puede observarse en el antrum gástrico y el cardias, pero también en el corpus, cuando está presente la gastritis atrófica, y pegado a las células epiteliales gástricas encontradas en el duodeno, cuando está presente la metaplasia gástrica.

G. hominis (*H. heilmannii*) es finamente espiralado, y tiene 3,5 a 7,5 μm en longitud y 0,9 μm de diámetro; tiene una periodicidad de 0,8 a 1 μm y hasta 12 flagelos en cada polo. El rRNA de 16S indica que este organismo pertenece al género *Helicobacter*, y está más estrechamente relacionado al *Helicobacter* sp. aislado del estómago de gatos (*H. felis*) que a *H. pylori* (17). El nombre *H. heilmannii* se propuso en honor del patólogo Alemán Heilmann. Sin embargo, el examen subsiguiente del rRNA de diferentes aislamientos clínicos indica que hay heterogeneidad suficiente entre aislamientos tentativamente identificados como *H. heilmannii* que es prematuro para proponer un nombre oficial (17). Esta bacteria coloniza sólo el área parietal de la célula de la mucosa gástrica y puede encontrarse dentro de las células parietales (18,19).

Diagnóstico

La infección por *H. pylori* puede ser diagnosticada por obtención de muestras de biopsias gástricas durante la endoscopia, por cultivo y aislamiento de la bacteria bajo condiciones microaeróbicas (90% N_2 , 5% O_2 , y 5% CO_2), y caracterizando las enzimas (ureasa, catalasa, y oxidasa) que produce. La visualización de la bacteria por microscopia de luz sobre portaobjetos teñidos con hematoxilina y eosina, Gram, Giemsa, Genta, o Warthin-Starry es también de gran beneficio ya que permite el diagnóstico concurrente de la extensión de la gastritis crónica antral activa que causa *H. pylori*. Sin embargo, debido a que la colonización por *H. pylori* es focal, los resultados de una biopsia negativa no excluyen la posibilidad de infección en áreas no estudiadas. La infección también puede ser diagnosticada por los niveles de inmunoglobulinas (Ig G o IgA) determinantes en plasma y saliva por medio de en-

sayos inmuno enzimáticos (20,21). Esta última técnica específica y sensible es no invasiva, y se considera que refleja la inmunidad de la mucosa y sistémica inducida por la infección del *H. pylori*.

Otras dos pruebas, que se basan en la producción de ureasa, también pueden usarse para identificar el *H. pylori*. Uno es la prueba de CLO (del Inglés *Campylobacter*-like organisms), que se realiza colocando una muestra de biopsia de mucosa en el medio que contiene urea y un colorante sensible al pH que cambia de color ante la presencia de iones OH^- . La segunda prueba no invasiva es la del aliento ^{14}C o ^{13}C seguido de la administración oral de urea ^{14}C o ^{13}C . Ninguna de estas pruebas es específica para *H. pylori* ya que *G. hominis*, que genera ureasa, también da una reacción positiva. Hasta que estén ampliamente disponibles métodos específicos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de ampliación del rRNA 16S (17), el diagnóstico de la infección por *G. hominis* debe confiarse en las características morfológicas histológicas; la identificación histológica debe ser confirmada por microscopia electrónica de transmisión ya que otros organismos espirales, p. ej., *Flexispira rappini*, también pueden estar presente en el estómago de los humanos (22).

Epidemiología

La seroepidemiología del *H. pylori* ha sido estudiada extensivamente en los Estados Unidos y en otros países (23). La alta frecuencia de seropositividad (de hasta 100% en algunos grupos de edad en Albania) y la adquisición de la infección durante la infancia son características de grupos socio-económicos pobres que viven en condiciones higiénicas hacinados o pobres y parece ser independiente de género y el origen étnico. En adultos de grupos socio-económicos más altos, el valor de seroconversión se estima en 0,5% al año, aunque la frecuencia de seropositividad aumentó con la edad y puede ser tan alta como 40%. Un estudio longitudinal ha indicado que la alta frecuencia de seropositividad en adultos mayores puede ser debido a un valor más alto de infección *H. pylori* en países Occidentales en los años entre las dos guerras mundiales que durante años recientes (efecto de asociación o grupal) (24). Alternativamente, el aumento en la frecuencia de infección en adultos mayores podría ser debido a años de bajo riesgo pero de efecto acumulativo de infección. Aunque la ruta de transmisión para esta infección no se conoce, la contaminación de agua potable puede jugar un papel en ciertos países en desarrollo (25). En los Estados Unidos y en otras regiones, el contacto directo y/o el consumo de alimento o agua contaminada por saliva (26), contenidos gástricos, o excrementos (27) pueden ser factores importantes. La reciente observación que *H. pylori*

puede aislarse de gatos (28) sugiere que esa transmisión de animales al hombre (o de humanos a animales) es también posible.

La epidemiología y la ruta de transmisión de *G. hominis* son en gran parte desconocidas. La frecuencia de esta infección parece extenderse desde menos del 1% de la población en países industrializados (29) al 3% a 8% en países en desarrollo (30). Aunque la detección de espirilos en el estómago de gatos y perros sugiere la posible transmisión desde los animales, existen marcadas diferencias morfológicas entre este espirilo y los organismos encontrados en el estómago de humanos.

Patogenicidad

H. pylori se considera un patógeno porque su presencia se asocia siempre con gastritis activa crónica, y la erradicación de la bacteria es seguida siempre por la resolución de la gastritis. Además, casi todos los pacientes con enfermedad de úlcera duodenal tienen gastritis por *H. pylori*, y la recaída de la úlcera es excepcional después de la erradicación del *H. pylori*. Así, la presencia de *H. pylori* parece necesaria para la producción de úlcera duodenal, con la excepción de la úlcera atribuida al uso de agentes antiinflamatorios no esteroides o al síndrome de Zollinger-Ellison (10). La asociación con úlcera gástrica no es tan fuerte, aunque la infección por *H. pylori* está presente en el 80% de los pacientes con úlceras gástricas que no consumen agentes antiinflamatorios no esteroides (10). Sin embargo, la mayoría de las personas infectadas con *H. pylori* no presentan ningún síntoma clínico. Esto puede ser debido a que personas son colonizadas por cepas menos virulentas o porque se requiere otro huésped o cofactores bacteriológico para que se manifieste la enfermedad.

Además, tres estudios prospectivos de cohort (grupo) han demostrado que las personas infectadas con *H. pylori* tienen un riesgo aumentado de desarrollar un adenocarcinoma gástrico tipo intestinal, pero no indiferenciado (10). De hecho, la asociación del *H. pylori* con la úlcera gástrica o con el cáncer gástrico puede subestimarse en estos estudios: la gastritis atrófica que sigue a la infección a largo plazo hace el nicho gástrico menos hospitalario para la bacteria, que puede tanto eliminar al *H. pylori* o lo hace difícil de detectar. No obstante, la gastritis atrófica *per se* se cree debida a una lesión precancerosa que conduce a carcinogénesis sin la presencia del *H. pylori*.

La patogenicidad de *G. hominis* es incierta. El organismo ha sido asociado con desorden gastrointestinal superior, y al portarlo se acompaña generalmente de gastritis, aunque la inflamación y la atrofia gástrica son menos observadas con *H. pylori* (31,32). Además, *G. hominis*

fue observado en pacientes con cáncer gástrico (3) así como también en pacientes con sólo gastritis mínima (29). En este número relativamente pequeño de casos, la infección concurrente frecuente con *H. pylori* hace difícil interpretar el rol patogénico respectivo de las bacterias. Es probable que *G. hominis* resultará ser por lo menos algo patogénica, como produce ureasa y productos de la acción de la ureasa que han sido implicados en la inflamación.

Colonización y Factores de Virulencia

H. pylori se multiplica con gran eficiencia en el ambiente hostil del estómago pero sobrevive pobremente en el lumen gástrico; se encuentra principalmente donde los rangos de pH van entre 4 y 7, p. ej., debajo la capa mucosa y en la proximidad cercana, o aún adjunta, a las células epiteliales gástricas superficial. La virulencia y el nicho ecológico de *G. hominis* son desconocidos, aunque su presencia dentro de células parietales de pacientes con desórdenes gastrointestinales (18,19) sugiere que es aun más resistente al ácido que *H. pylori*.

La producción de ureasa fue el primer factor putativo de virulencia o colonización estudiado. La producción de esta enzima es compartida por los dos organismos, y puede explicar su extraordinaria capacidad para sobrevivir en un ambiente anteriormente considerado estéril a causa de la presencia de enzimas proteolíticas, así como también por el bajo pH de los contenidos gástricos. Debido a que los nichos ecológicos de estas bacterias son ricos en urea, la ureasa genera iones OH⁻ que neutralizan el ácido gástrico. Aunque la neutralización de los ácidos gástricos beneficia a las dos bacterias, la producción de iones hidróxidos también es tóxica para las células epiteliales gástricas *in vivo*, como está indicado por experimentaciones *in vitro* (33).

Los otros dos factores importantes de virulencia compartidos por *H. pylori* y *G. hominis* son su forma espiral y la motilidad de sus flagelos, que los torna resistentes al flujo peristáltico de los contenidos gástricos y les permite persistir en la capa mucosa. Debido a que *G. hominis* parece infectar a menos personas que *H. pylori*, un papel más importante podría ser atribuible a las características que son únicas a *H. pylori*; estas incluyen la producción de otras enzimas (catalasa, oxidasa, proteasa, y fosfolipasa), así como también a la síntesis de proteínas adhesinas específicas que les permiten adherirse a la mucosa y a las células epiteliales, ambos *in vivo* e *in vitro* (34-36).

El factor putativo de virulencia de *H. pylori* que ha comandado la mayor atención durante los últimos años han sido su citotoxina vacuolizante (producto del gen *vacA*). La admi-

nistración intragástrica de la toxina a los ratones ocasiona algunos (pero no todos) de los daños de tejido vistos en las personas infectadas por *H. pylori* (37). Además, la producción de citotoxina se correlaciona altamente con la producción de una importante proteína antigénica de peso molecular alto (120 a 128 kilodaltons) que se llama proteína asociada a la citotoxina (cagA) y no es la toxina en sí misma (38).

La diversidad del *H. pylori*

Los aislamientos de *H. pylori* pueden diferir con respecto a cada uno de los factores de virulencia descritos arriba; esta diversidad probablemente es para contribuir a la variación en la colonización o la enfermedad. Por ejemplo, las cepas ureasa negativas han sido aisladas, y la citotoxina vacuolizante es producida por sólo un subconjunto de cepas de *H. pylori* (cepas vacA+ o tox+) (39-41). Esta observación es probable que sea clínicamente relevante porque la mayoría de todas las cepas de pacientes con úlceras duodenales, y muchas cepas de pacientes con cáncer gástricos, producen citotoxinas, mientras que sólo una fracción de las cepas de pacientes con gastritis sola producen citotoxina (42,43). Esta diversidad fenotípica se refleja en la gran diversidad a nivel del DNA. Así, sólo las cepas productoras de citotoxina contienen el gen para esta proteína asociada citotoxina (cagA) (38,42), aunque las pruebas genéticas han mostrado que la proteína cagA no es necesaria para la producción de toxina (44). Las cepas que no producen la proteína de 128-kDa cagA generalmente carece del gen cagA entero y de genes vecinos adicionales. Aunque la función de la región cagA es desconocida, su presencia o ausencia es marcada fácilmente por hibridación o PCR y así sirve como un marcador fácil para la producción probable de citotoxina y posible virulencia de cepas de *H. pylori*. Otros factores de virulencia probablemente están presentes. Por ejemplo, otra región recientemente descubierta constituye una del genoma de por lo menos 21 kilobases de *H. pylori* en experimentos de hibridación, y su presencia se correlaciona altamente con la presencia de cagA: 39 de 40 cepas que carecen de cagA también carece de esta región, y 50 de 52 cepas que contienen cagA poseía esta región. Esta región recientemente descubierta está siendo llamada cagII, y el esfuerzo a secuenciarla está casi completo (D. E. Berg, com. pers.). Las búsquedas preliminares han identificado varios marcos abiertos de lectura con fuerte homología a funciones de virulencia desde otros microbios (45).

Además de estos genes extensamente estudiados, la diversidad genética de varias cepas de *H. pylori* pueden ser demostradas por el uso de dos métodos sensibles, eficientes y confiables basados en PCR (46,47). Este enfoque es parti-

cularmente útil porque permite trazar estudios epidemiológicos de las cepas.

La infección y la Respuesta Inmune

Uno de los aspectos más confusos de la infección gástrica con *H. pylori* es su persistencia a pesar de la intensiva respuesta inmune local y sistémica. Estas respuestas inmunes son sumamente complejas y varían entre los humanos infectados. La respuesta sistémica está caracterizada por un aumento marcado en la IgG plasmática, que permanece presente por meses después que la infección se ha curado. La respuesta local incluye la producción de IgA, que se pega a la superficie antigénica de *H. pylori in vitro* y cubre a la bacteria *in vivo*. Además, la infección se asocia consistentemente con una respuesta inflamatoria intensa y la infiltración de células de la mucosa gástrica. Aunque las células polimorfonucleares están frecuentemente presentes, la mayoría de las células en tal infiltrado son células mononucleares. Ambas células B y T están presentes, y estudios recientes han indicado que la actividad de los linfocitos *natural killer* de la sangre periférica pueden estar aumentados por el *H. pylori*, posiblemente por su estimulación en la producción de interferón y otras citoquinas (48). Así, el portador de largo plazo de la infección puede estar relacionado a la capacidad de la bacteria para influir la respuesta de T-cell. La evidencia fragmentaria también sugiere que esta infección puede ser abortiva y curar espontáneamente sin el uso de antibióticos (A. Dubois y D. E. Berg, inédito).

Por otra parte, la respuesta de la mucosa puede promover la colonización, como lo indica la observación que los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) tienden a tener un valor inferior de infección que los sujetos ancianos-equiparados quienes son negativos para el virus de la inmunodeficiencia adquirida humana (49,50). El estudio posterior (50) también demostró que esos pacientes con SIDA tuvieron un modelo diferente de gastritis, caracterizado por una mayor respuesta de células mononucleares, menos folículos linfoides, y una preponderancia mayor de metaplasia intestinal. La respuesta inmune puede prevenir también la invasividad del *H. pylori*, como se sugiere por la observación anecdótica pero confusa de infección invasiva por *H. pylori* en un paciente con SIDA (51).

Tratamiento

Aunque el *H. pylori* es sensible a muchas drogas antimicrobianas *in vitro*, es difícil erradicarlo del estómago. Esto puede ser asociado a la falla del antibiótico por el ácido gástrico, la limpieza por vaciado gástrico, y la difícil penetración

de la capa mucosa en que la bacteria está radicada. La resistencia del *H. pylori* a antibióticos específicos, especialmente metronidazole, es frecuente también. Por lo tanto, se acepta generalmente que una combinación de por lo menos dos, y posiblemente tres, agentes antimicrobianos deberían darse por un mínimo de 1 semana. El régimen hallado como muy efectivo es la administración de amoxicilina (o tetraciclina) más metronidazole y subsalicilato de bismuto 2 a 4 veces por día por 2 a 3 semanas (52). El uso de un antibiótico asociado con un agente antisecretorio, tal como un antagonista del receptor de histamina H₂, ha dado resultados desilusionantes. En contraste, la combinación de un inhibidor de bomba de protones (antagonista de H⁺-K⁺ ATPasa) con amoxicilina o macrólidos ácido estables (claritromicina o roxitromicina) parece más prometedor; un número de estudios están siendo realizados para determinar la dosis óptima, la duración, terapia concomitante, y costo-eficacia de estos compuestos (53,54). Recientemente, se mostró que por lo menos un curso de 7 días de cualquiera de estos regímenes se requieren para obtener un alto (90%) valor de curación, pero que el tratamiento continuo por más de 10 días no mejora significativamente su eficacia. Finalmente, la terapia local por 1 h fue recientemente realizado con resultados óptimos, aunque en un solo centro en este momento (55). Este tratamiento involucra una administración por 2 días de un agente mucolítico para disolver la capa mucosa y de un inhibidor de bomba de protones. Sobre el tercer día, un balón es introducido en la segunda porción del duodeno debajo del control fluoroscópico, y una solución de pronasa, amoxicilina, metronidazole, y subsalicilato de bismuto se inyecta en el estómago, donde se deja por 1 h. La presencia del balón duodenal parece prevenir el vaciado de los antibióticos y del agente mucolítico, asegurando así la eficacia máxima de la terapia.

Investigación Futura

Los pasados 12 años han visto un progreso amplio en la investigación sobre *H. pylori* como una causa de gastritis activa crónica, enfermedad de úlcera duodenal, y cáncer gástrico. Esto ha sido principalmente debido a una colaboración inusitada entre gastroenterólogos, patólogos, genetistas moleculares, bacteriólogos, e inmunólogos. Sin embargo, nuestra comprensión de como *H. pylori* coloniza y ocasiona enfermedades está lejos de ser completa, y se beneficiará de los estudios desempeñados en modelos animales que pueden ser experimentalmente infectados con *H. pylori* (56-59). Además, ningún tratamiento administrado fácilmente que conduzca a la erradicación de esta bacteria en todos los pacientes está aún disponible, aunque un mejor

conocimiento de su fisiología puede conducir al desarrollo de una «bala de plata.» Los estudios en animales que no son infectados naturalmente con *H. pylori* sugieren las posibilidades para vacunas (56,57), y los ensayos en proceso en primates no humanos exploran la posibilidad de inmunizar huéspedes que pueden infectarse naturalmente con este organismo. Aunque la eliminación de la enfermedad úlcera péptica y de ciertas formas de cáncer gástrico requerirá esfuerzos semejantes y extensos de autoridades de salud pública, esta meta ahora parece estar dentro del alcance de la comunidad médica y científica.

Agradecimientos

El autor agradece a los Drs. P. Baker y D.E. Berg por sus útiles sugerencias y comentarios durante la preparación de esta revisión.

El Dr. Dubois es Profesor de medicina y cirugía (investigación), subdirector, Digestive Diseases Division, y jefe, Laboratory of Gastrointestinal and Liver Studies, F. Edward Herbert School of Medicine of the Uniformed Services University of the Health Sciences, Bethesda, Maryland. Estudia la fisiología y patofisiología de la secreción gástrica y vaciado gástrico así como también el papel de la infección gástrica con el H. pylori en enfermedades gastroduodenales.

Referencias

1. Rappin J. Contribution à l'étude de bactéries de la bouche à l'état normal. 1881. Quoted by Breed RS, Murray EGD, Hitchens AP, Bergey's manual of determinative bacteriology, 6th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1948;217.
2. Bizzozero G. Sulle ghiandole tubulari del tube gastroenterico e sui rapporti del loro coll'epitelio de rivestimento della mucosa. Atti R Accad Sci Torino 1892;28:233-51.
3. Krienitz W. Ueber das Auftreten von Spirochäten verschiedener Form im Mageninhalte bei Carcinoma ventriculi. Dtsch Med Wochenschr 1906;28:872-89.
4. Freedburg AS, Barron LE. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. Am J Dig Dis 1940;7:443-5.
5. Steer HW, Colin-Jones DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. Gut 1975;16:590-7.
6. Black JW, Duncan WAM, Durant CJ, Ganellin CR, Parson EM. Definition and antagonism of histamine H₂ receptors. Nature 1972;236:384-90.
7. Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983;i:1273.
8. Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983;i:1273-5.
9. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984;i:1311-5.
10. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA 1994;272:65-9.
11. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 1991;325:1127-31.
12. Nomura A, Stemmerman GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma in a population of Japanese Americans in Hawaii. N Engl J Med 1991;325:1132-6.
13. Isaacson PG, Spencer J. Is gastric lymphoma an infectious disease? Hum Pathol 1993;24:569-70.
14. Fox JG, Yan LL, Dewhirst FE, et al. *Helicobacter bilis* sp. nov., a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers,

- and intestines of aged, inbred mice. *J Clin Microbiol* 1995;33:445-54.
15. Heilmann KL, Borchard F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological and ultrastructural findings. *Gut* 1991;32:137-40.
 16. McNulty CAM, Dent JC, Curry A, et al. New spiral bacterium in gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1989;42:585-91.
 17. Solnick JV, O'Rourke J, Lee A, Tompkins LS. Molecular analysis of urease genes from a newly identified uncultured species of *Helicobacter*. *J Infect Dis* 1993;168:379-83.
 18. Rollason TP, Stone J, Rhodes JM. Spiral organisms in endoscopic biopsies of the human stomach. *J Clin Pathol* 1984;37:23-6.
 19. Dye KR, Marshall BJ, Frierson HF, Guerrant RL, McCallum RW. Ultrastructure of another spiral organism associated with human gastritis. *Dig Dis Sci* 1989;34:1787-91.
 20. Perez-Perez GI, Dworkin BM, Chodos JE, Blaser MJ. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Ann Intern Med* 1988;109:11-7.
 21. Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman PM. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 1990;322:359-63.
 22. Archer JR, Romero S, Ritchie AE, et al. Characterization of an unclassified microaerophilic bacterium associated with gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1988;26:101-5.
 23. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiol Rev* 1991;13:42-59.
 24. Cullen DJE, Collins BJ, Christiansen BJ, et al. When is *Helicobacter pylori* infection acquired? *Gut* 1993;34:1681-2.
 25. Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Gastrointestinal Physiology Working Group. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Lancet* 1991;337:1503-6.
 26. Ferguson DA, Li C, Patel NR, Mayberry WR, Chi DS, Thomas E. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. *J Clin Microbiol* 1993;31:2802-4.
 27. Thomas JE, Gibson CR, Darboe MK, Dale A, Weaver LT. Isolation of *H. pylori* from human faeces. *Lancet* 1992;340:1194-5.
 28. Handt LK, Fox JO, Dewhirst FE, et al. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. *Infect Immun* 1994;62:2367-74.
 29. Mazzuchelli L, Wilder-Smith CH, Ruchti C, Meyer-Wyss B, Merki HS. *Gastrospirillum hominis* in asymptomatic, healthy individuals. *Dig Dis Sci* 1993;38:2087-9.
 30. Chen Z, Wang B, Xu H, et al. Spiral shaped bacteria in the human gastric biopsy. *Hua-Hsi I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao* 1993;24:392-4.
 31. Logan RPH, Karim QN, Polson RJ, Walker MM, Baron JH. *Gastrospirillum hominis* infection of the stomach. *Lancet* 1989;ii:672.
 32. Morris A, Ali MR, Thomsen L, Hollis B. Tightly spiral shaped bacteria in the human stomach: another cause of active chronic gastritis? *Gut* 1990;31:134-8.
 33. Smoot DT, Mobley HLT, Chippendale GR, Lewison JF, Resau JH. *Helicobacter pylori* urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. *Infect Immun* 1991;59:1992-4.
 34. Boren T, Falk P, Roth KA, Larson G, Normark S. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 1993;262:1892-5.
 35. Fauchere J, Blaser MJ. Adherence of *Helicobacter pylori* cells and their surface components to HeLa cell membranes. *Microb Pathol* 1990;9:427-39.
 36. Hemalatha SG, Drumm B, Sherman PJ. Adherence of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelial cells in vitro. *Med Microbiol Immunol* 1991;35:197-202.
 37. Telford JL, Ghiara P, Dell'Orco M, et al. Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. *J Exp Med* 1994;179:1653-8.
 38. Tummuru MK, Cover TL, Blaser MJ. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun* 1993;61:1799-809.
 39. Figura N, Gugliemetti P, Rossolini, et al. Cytotoxin production by *Campylobacter pylori* strains isolated from patients with peptic ulcers and from patients with chronic gastritis only. *J Clin Microbiol* 1989;27:225-6.
 40. Cover TL, Dooley CP, Blaser MJ. Characterization of and human serologic response to proteins in *Helicobacter pylori* broth culture supernatants with vacuolizing cytotoxin activity. *Infect Immun* 1990;58:603-10.
 41. Cover TL, Blaser MJ. Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 1992;267:10570-5.
 42. Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:5791-5.
 43. Cover TL, Glupczynski Y, Lage AP, et al. Serologic detection of infection with cagA+ *Helicobacter pylori* strains. *J Clin Microbiol* 1995;33:1496-500.
 44. Tummuru MK, Cover T, Blaser M. Mutation of the cytotoxin-associated cagA gene does not affect the vacuolating cytotoxin activity of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1993;62:2609-13.
 45. Akopyants NS, Kersulyte D, Berg DE. cagII, a new multigenic locus only present in the most virulent *Helicobacter pylori* strains. Abstracts of the 95th General Meeting of the American Society for Microbiology. Washington, DC, 1995:181, Abstract B-90.
 46. Akopyanz N, Bukanov NO, Westblom TU, Kresovich S, Berg DE. DNA diversity among clinical isolates of *Helicobacter pylori* detected by PCR-based rapid fingerprinting. *Nucleic Acid Res* 1992;20:5137-42.
 47. Akopyanz N, Bukanov NO, Westblom TU, Berg DE. PCR-based RFLP analysis of DNA sequence diversity in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Res* 1992;20:6221-5.
 48. Tarkkanen J, Kosunen TU, Saksela E. Contact of lymphocytes with *Helicobacter pylori* augments natural killer cell activity and induces production of interferon. *Infect Immun* 1993;61:3012-6.
 49. Edwards PD, Carrick J, Turner J, Lee A, Mitchell H, Cooper DA. *Helicobacter pylori*-associated gastritis is rare in AIDS: antibiotic effect or a consequence of immunodeficiency? *Am J Gastroenterol* 1991;86:1761-4.
 50. Steephen A, Rajman I, Schwarz P, et al. The spectrum of gastritis in Zambian patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Gastroenterology* 1995;108:A921.
 51. Meiselman MS, Miller-Catchpole R, Christ M, Randall E. *Campylobacter pylori* gastritis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Gastroenterology* 1988;95:209-12.
 52. Chiba N, Rao BV, Rademaker JW, Hunt RH. Meta-analysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1992;87:1716-27.
 53. Logan RPH, Gummert PA, Schaufelberger HD, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* with clarithromycin and omeprazole. *Gut* 1994;35:323-6.
 54. Graham DY, Opekun AR, Klein PD. Clarithromycin for the eradication of *H. pylori*. *J Clin Gastroenterol* 1993;16:292-4.
 55. Kimura K, Ido K, Saifuku K, et al. A 1-h topical therapy for the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 1995;90:60-3.
 56. Michetti P, Corthésy-Theulaz I, Davin C, et al. Immunization of BALB/c mice against *Helicobacter felis* infection with *Helicobacter pylori* urease. *Gastroenterology* 1994;107:1002-11.
 57. Marchetti M, Arico B, Burrioni D, Figura N, Rappuoli R, Ghiara P. Development of a mouse model of *Helicobacter pylori* infection that mimics human disease. *Science* 1995;267:1655-8.
 58. Krakowka S, Morgan DR, Kraft WG, Leunk RD. Establishment of gastric *Campylobacter pylori* infection in the neonatal gnotobiotic piglet. *Infect Immun* 1987;55:2789-96.
 59. Dubois A, Fiala N, Heman-Ackah LM, et al. Natural gastric infection with *Helicobacter pylori* in monkeys. A model for human infection with spiral bacteria. *Gastroenterology* 1994;106:1405-17.

EL Virus del HIV-1 de Pacientes de May Harbor de Diferentes Subtipos Filogenéticos: Las implicancias para la Evolución de la Pandemia HIV/SIDA

Danuta Pieniazek, Luiz M. Janini, Artur Ramos, Amilcar Tanuri, Mauro Schechter, Jose M. Peralta, Anna C. P. Vicente, Norman K. Pieniazek, Gerald Schochetman, y Mark A. Rayfield

Las variantes virales aisladas de pacientes infectados con HIV a través del mundo comparten una diversidad notable, especialmente en la glicoproteína de envoltura gp120. Los estudios filogenéticos han agrupado a los aislamientos de HIV-1 en ocho subtipos (A-H). No obstante, aún dentro de una sola persona infectada, el HIV está presente como unas «cuasi-especies,» o un enjambre de variantes estrechamente conexas. Esta diversidad genética, que en el caso del HIV-1 se acumula a una tasa de aproximadamente una sustitución de nucleótido por genoma por ciclo de replicación, da al virus una flexibilidad enorme para responder a un amplio conjunto de presiones de selección *in vivo*. Como una consecuencia, la droga-resistencia y las mutantes inmunológica se generan rápidamente en personas infectadas mediante todas las etapas de infección. Sobre una escala global, la pandemia del HIV se reconoce como consistiendo de muchas epidemias separadas, cada una con una geografía característica, poblaciones afectadas, y tipo predominante de cepa viral. Con unos estimados 15 millones de personas infectadas, la distribución geográfica de los subtipos virales está llegando a ser más dispersa, y estas demarcaciones son además confundidas por la evidencia creciente de infecciones mixtas.

La emergencia epidémica de infecciones mixtas con variantes heterotípicas de HIV-1 e HIV-2 han sido reconocidas por algún tiempo en las áreas geográficas donde ambos tipos de virus están presentes. Nosotros informamos estas infecciones en Côte d'Ivoire y Brasil (1,2); han sido también informados desde la India (3). En contraste, las infecciones mixtas homotípicas de variantes distintas de HIV-1 han sido sólo recientemente sugeridas por la presencia de sueros de ampliamente reactivos y la evidencia de recombinantes HIV de regiones geográficas en que circulan múltiples subtipos de HIV-1. La infección dual de HIV-1 en dos pacientes de Tailandia ha sido demostrada por análisis de secuencia de DNA viral (4).

Como la pandemia de HIV-1 ha crecido, la presencia simultánea de múltiples subtipos en una región ha llegado a ser común. Como consecuencia, una frecuencia aumentada de infeccio-

nes mixtas de HIV-1 podría esperarse. Así, hay una necesidad de estimar la prevalencia y distribución geográfica de este tipo de infección. El análisis de secuencia del DNA proviral de HIV ha sido el método de elección para caracterizar la diversidad genética del HIV. Sin embargo, debido a las aún relativamente limitadas determinaciones de secuencia de fragmentos pequeños por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por consumir mucho tiempo y ser muy laboriosos, este método no es particularmente práctico para estudios moleculares epidemiológicos a gran escala. Para solucionar este problema, hemos desarrollado un método genético basado en el polimorfismo del sitio de restricción para analizar las infecciones mixtas homotípicas por HIV-1 dentro de poblaciones infectadas. El concepto de este ensayo está basado en la correlación observada entre los mapas de restricción del HIV-1 aislados con su clasificación filogenética, que está basado en los datos de secuenciación. Así, ciertas enzimas de restricción pueden usarse para predecir el filogrupo de HIV-1 de muestras infectadas. Las diferencias en movilidad electroforética de productos de digestión de endonucleasas resultan del polimorfismo del sitio de restricción en la selección del genoma del HIV-1 y permite el rápido reconocimiento de distintos subtipos filogenéticos. Un fragmento 297 bp pol que mide el gen de la proteasa viral entera se usa para nuestro análisis. El gen viral es ampliado por nested PCR que usa templados de DNA, células mononucleares de sangre periférica sin cultivar (PBMC) o cultivo viral. La clasificación preliminar de cepas de HIV-1 en bien definidos subtipos A, B, C, D, y F es hecha por análisis de restricción secuencial por endonucleasa. El polimorfismo de restricción *AluI* en el gen de la proteasa en un PCR ampliado divide a las cepas virales en dos grupos: los subtipos B y D pertenecen a un grupo, y los subtipos A, C, y F a otro (Figura 1A). La diferenciación adicional de los subtipos de HIV-1 dentro de esos dos grupos es realizado por análisis de patrones de digestión enzimática del gen proteasa por *Hinfl*, *BclI*, *MaeI*, *SpeI*, y *Scal* (Pieniazek et al., manuscrito en preparación). Los modelos de migración electroforética visualizados por coloración de bromuro de etidio o por sondas radiomarcadas se determinan en un gel

al 10% de acrilamida. En infecciones únicas, se detecta un único modelo de restricción, mientras que en infecciones múltiples que involucran cepas de distintos subtipos de HIV-1, son observados complejos modelos de digestión en personas infectadas. Como ejemplo, en la Figura 1A, presentamos tres modelos distintos de restricción *AluI* del gen de la proteasa que son característicos para infecciones únicas por subtipos virales de A, C, y F (modelo # 1) y por subtipos B y D (modelos # 2 y # 3). En la Figura 1B, mostramos una combinación típica de dos modelos distintos de restricción *AluI* (#1 y # 2) encontrados en un paciente infectado con dos cepas virales de subtipos F y B. Basados en nuestro análisis sobre la región conservada del gen de proteasa, deberíamos detectar la mayoría de las cepas de HIV-1; sin embargo, algún aislamiento altamente divergente puede escapar a la amplificación de PCR como resultado de desigualdades de los primers. Además, desde un sólo nucleótido la sustitución podría o generar o destruir un sitio de restricción, el análisis de sucesión permanece como la herramienta definitiva para identificar variantes de infecciones múltiples. No obstante, este ensayo puede aplicarse convenientemente para screening de un número grande de muestras.

Usando este método, hemos realizado el screening de 208 muestras de DNA proviral de HIV-1 recolectados de países en Sudamérica, África, y Asia donde se encuentran cepas de distin-

tos subtipos de HIV-1. Observamos la presencia simultánea de dos modelos distintos de digestión en PCR del gen de la proteasa amplificada (Figura 1B) en 31 muestreos; nuestra observación sugiere la superinfección con cepas de HIV-1 de distinto origen. Para eliminar la potencialidad en el laboratorio de contaminación cruzada, analizamos los modelos de restricción del gen de la proteasa de múltiples alícuotas del PBMC del paciente. Además, el análisis fue repetido en el DNA de un segundo muestreo de sangre recolectadas de cada uno de los pacientes. Los análisis para los primeros cinco de 31 pacientes se completaron, y los datos se resumen aquí (los detalles están en Janini et al., manuscrito en preparación). Secuencia y análisis filogenético del gen de la proteasa (Figura 2) en PBMC de esos cinco pacientes con infecciones duales confirmadas ocasionado por cepas de subtipos de HIV-1 B y F en una persona (Br5), subtipos F y D en otro

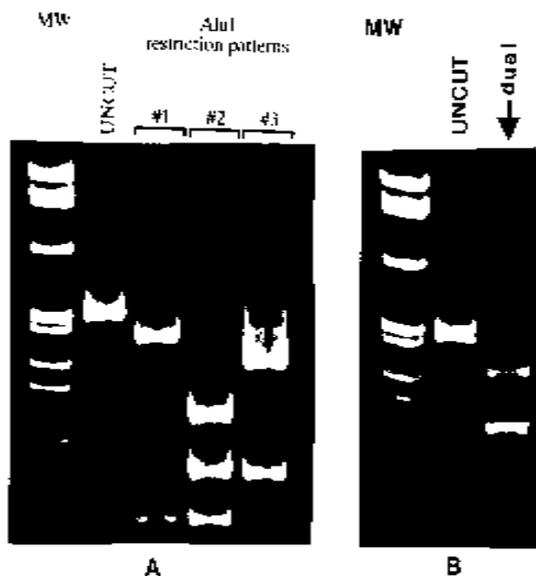


Figura 1.
A. Tres patrones de digestión distintos *AluI* de los genes de proteasa por PCR representando una sola infección por HIV-1 por cepa viral del subtipo A, C, y F (patrón # 1), y subtipos B y D (patrones #2 y #3).
B. La presencia de dos patrones distintos de digestión *AluI* (#1 y #2) de la proteasa del gene en PBMC del paciente dualmente infectado por cepas virales del subtipo F y B (lane 3). La flecha indica el fragmento diagnóstico detectado por hibridación con probe radiactiva (2). MW representa el peso molecular del marcador θ_{X174} RF DNA digerido con *HaeIII*

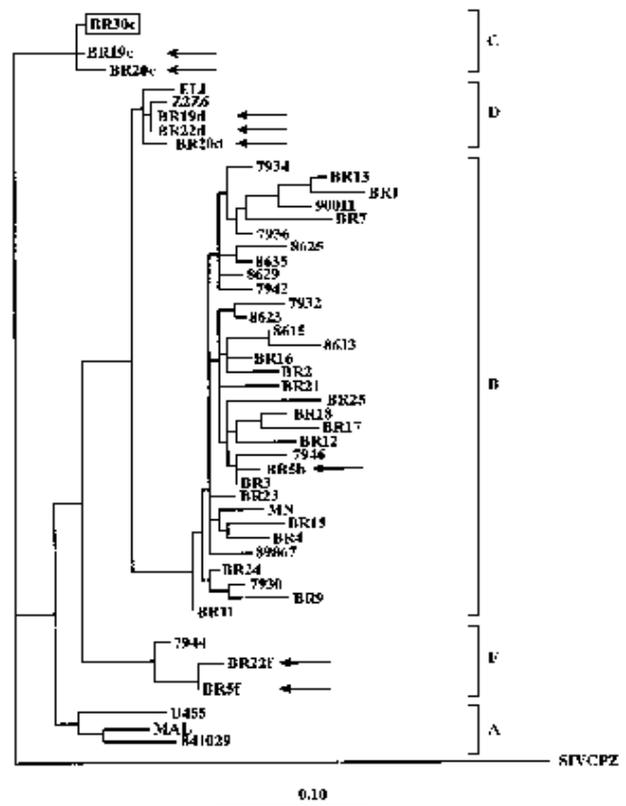


Figura 2
Clasificación filogenética de cepas de HIV-1 en pacientes dualmente infectados. Secuencia de HIV-1 de infecciones duales (Br5, 19, 20 y 22) están indicadas con flechas, y la cepa principal en el niño infectado (Br30) en un recuadro. Las tres fueron construidas en base a la secuencia de DNA de la proteasa del gen usando el método de máxima probabilidad por el programa fastDNAm1 (6). La secuencia de proteasa SIVcpz fue usada como grupo externo. Los distintos subtipos de HIV-1 están delineados. La escala de la barra muestra la relación de la sustitución de nucleótidos dados por la longitud de la rama horizontal. La distancia vertical está realizada sólo para fines de claridad.

paciente (Br22), y subtipos C y D en una pareja casada (Br19 y 20). Además, en el niño (Br30) de esta pareja, dos modelos distintos de digestión por *AluI* fueron encontrados también; la cepa más importante de HIV-1 se agrupó entre el subtipo C del virus de los padres. La cepa menor de este niño es probable que represente el subtipo D, pero no hubo suficiente material para el clonado y secuenciado adicional de esta cepa.

La detección de las infecciones múltiples homotípicas y heterotípicas de ocurrencia natural pueden tener importantes implicaciones para la inmunoterapia porque la infección con un subtipo de HIV no puede proteger totalmente contra superinfecciones subsiguientes con cepas distintas de HIV. Sin embargo, nosotros no sabemos si la adquisición del virus en los pacientes adultos doblemente infectados fue secuencial o simultánea. No obstante, las consecuencias de infecciones mixtas pueden afectar profundamente la capacidad del virus para cambiar y puede modificar la dirección de la pandemia mediante modelos alterados de patogénesis viral, aumentar variación genética mediante recombinación, y la generación de viriones pseudotipos, incluyendo partículas fenotípicamente mixtas del virus. Está por ser anticipado que tales sucesos ensancharían finalmente el tropismo celular para el HIV y comandando el diseño de inmunoterapias polivalentes. Finalmente, nuestros datos juntos con el recientemente publicado análisis genético del HIV-1 y el HIV-2 (5) sugiere que múltiples infecciones homotípicas con las cepas divergentes de HIV pueden ser más comunes que lo que se pensaba anteriormente. La prueba de screening descrita aquí será útil en estimar la incidencia de

tales infecciones de HIV-1. Creemos que esta información es crucial para tanto las evaluaciones de la pandemia como para el desarrollo de estrategias de intervención.

Danuta Pieniazek, * Luiz M. Janini, *# Artur Ramos, *# Amilcar Tanuri, # Mauro Schechter, & Jose M. Peralta, # Anna C.P. Vicente, Norman J. Pieniazek, * Gerald Schochetman, * and Mark A. Rayfield *
* National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA; # Universidade Federal do Rio de Janeiro, and & Hospital Clementino Fraga Filho, and Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil

Referencias

1. Rayfield M, De Cock K, Heyward W, et al. Mixed human immunodeficiency virus (HIV) infection in an individual: demonstration of both type 1 and type 2 proviral sequences by using polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1988;158:1170-6.
2. Pieniazek D, Peralta JM, Ferreira JA, et al. Identification of mixed HIV-1/HIV-2 infections in Brazil by polymerase chain reaction. *AIDS* 1991;5:1293-9.
3. Grez M, Dietrich U, Balfe P, et al. Genetic analysis of Human Immunodeficiency Virus type 1 and 2 (HIV-1 and HIV-2) mixed infections in India reveals a recent spread of HIV-1 and HIV-2 from a single ancestor for each of these viruses. *J Virol* 1994;68:2161-8.
4. Artenstein AW, VanCott TC, Mascola JR, et al. Dual infection with HIV type 1 of distinct envelope subtypes in humans. *J Infect Dis* 1995;171:805-10.
5. Gao F, Yue L, Robertson DL, et al. Genetic diversity of human immunodeficiency virus type 2: evidence for distinct sequence subtypes with differences in virus biology. *J Virol* 1994;68:7433-47.
6. Larsen N, Olsen GJ, Madaid BN, et al. The ribosomal database project. *Nucleic Acids Res* 1993;21:3021-3.

Infección Simultánea de Ninfas de *Ixodes ricinus* por dos especies de *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato: posibles implicaciones de las manifestaciones de clínicas

Los datos de estudios Europeos indican que en humanos, genoespecies particulares de *Borrelia burgdorferi* pueden asociarse con las manifestaciones clínicas específicas de la enfermedad de Lyme. Las infecciones por *B. burgdorferi* sensu stricto tienden a conducir a síntomas artríticos, mientras que las infecciones por *B. garinii* parecen ocasionar complicaciones neurológicas. Las manifestaciones cutáneas tardías (acrodermatitis) parecen estar asociadas con *B. afzelii* (1). Las manifestaciones clínicas mixtas han sido también descritas (2). Recientemente se ha demostrado, mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que el DNA de más de una de las tres especies de *Borrelia* asociadas con la enfermedad de Lyme en Europa estaban presentes en los fluidos biológicos de los pacientes de enfermedad Lyme (3). Estos datos generan la pregunta en lo que concierne al crecimiento relativo de especies de *Borrelia* después de una mordedura por una garrapata dualmente infectada, la importancia clínica de la infección humana ocasionada por más de una de las especies de *Borrelia*, y el origen de estas infecciones múltiples. Este último punto evoca la siguiente pregunta: ¿Estas infecciones resultan de las mordeduras consecutivas por dos garrapatas infectadas o desde una única mordedura por una garrapata infectada por más de una especie?

Para investigar si las garrapatas están infectadas por especies diferentes del complejo *B. burgdorferi* a la vez, llevamos a cabo un muestreo del vector *Ixodes ricinus* durante la primavera de 1994, en Rambouillet Forest cerca de París. Un total de 249 ninfas no alimentadas, recolectadas de la vegetación, fueron analizadas por PCR. Las garrapatas se aplastaron en buffer de fosfatos salino, solubilizado en 0,5 % de Tween 20, y hervidas por 10 min. El lisado resultante fue usado como una plantilla para las reacciones de amplificación por los primers *ospA* universales basados en SL o en aquellos basados en los tres pares de primers genoespecíficos (3). Estos últimos primers distinguen las tres especies asociadas a la enfermedad de Lyme *B. burgdorferi* sensu lato p. ej., *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, y *B. afzelii*. En algunos casos, los productos amplificados de DNA fueron digeridos con enzimas de restricción específicas para confirmar la tipificación de la cepa de *Borrelia*.

Treinta de las 249 ninfas fueron positivas para *B. burgdorferi* cuando fueron usados los primers SL universales. La prueba adicional de 5 de 30 ninfas por PCR, usando conjuntos de primers genoespecíficos y el análisis de restricción, no confirmó los resultados preliminares con los primers universales. Esto puede haber sido debido o a la variabilidad genotípica de *B. burgdorferi* sensu lato o a la existencia de otro subgrupo distinto o especies genómicas incluidas en *B. burgdorferi* sensu lato, como otros datos parecen indicar (4). De las otras 25 ninfas, 22 fueron analizadas por ambas formas: análisis de restricción y primers específicos, y tres por la análisis de restricción sola. (El material disponible de garrapata no era suficiente para realizar PCR con primers genoespecíficos) Diecinueve ninfas estaban infectadas por especies únicas de *Borrelia* (cuatro por *B. garinii*, 15 por *B. afzelii*), y seis estaban infectadas por más de una (dos por ambos *B. burgdorferi* sensu stricto y *B. garinii*, tres por *B. garinii* y *B. afzelii*, uno por *B. burgdorferi* sensu stricto y *B. afzelii*).

A partir de estos resultados, parece que cuando las ninfas están infectadas con una especie, *B. afzelii* es la más frecuente. Estas especies pueden realmente ser prevalentes en esta área de estudio o pueden tener un mayor tropismo para el tejido dérmico y/o para el sistema circulatorio periférico del vertebrado que las otras dos especies. En ninfas infectadas, la presencia simultánea de más de una genoespecie en ninfas no alimentadas de *I. ricinus* no fue excepcional (24%), y todas las combinaciones de las dos especies fueron observadas. La asociación de tres genoespecies no ha sido aún detectada. Las infecciones simultáneas en ninfas sin alimentarse podrían tener diferentes explicaciones. La primera es una comida larval sobre un hospedador infectado por más de una especie. Recientemente, *Apodemus speciosus* (el ratón de campo) infectado por dos especies diferentes se han encontrado (5). Una segunda posibilidad es por comidas infecciosas interrumpidas sucesivas. Una tercera posibilidad es una comida larval infecciosa por una larva infectada anteriormente transovariamente. La cuarta posibilidad es una infección mixta adquirida transovariamente.

Bruno Pichon,* Edmond Godfroid,# Bernard Hoyois,# Alex Bollen,# Francois Rodhain,* y Claudine Pérez-Eid*

** Unite' d'Ecologie des Systèmes Vectoriels,
Institut Pasteur 75724 Paris, France
Laboratoire de Genetique Applique',
Universite' Libre de Bruxelles, Rue de
l'Industrie 24, B-1400 Nivelles, Belgium*

Este trabajo fue apoyado por subsidios de Recherche & Partage Association, la Gould Foundation, y el Conseil du Departement du Val d'Oise. E. Godfroid, B. Hoyois, y A. Bollen, fueron apoyados por un subsidio del Walloon Region of Belgium (Convención UIB, Región Wallonne No. 2267).

Referencias

1. Assous MV, Postic D, Paul G, Nevot P, Baranton G. Western blot analysis of sera from Lyme borreliosis patients according to the genomic species of the *Borrelia* strain used as antigens. *Eur J Clin Infect Dis* 1993;12:261-8.
2. Wienecke R, Neubert U, Volkenandt M. Cross-immunity among types of *Borrelia burgdorferi*. *Lancet* 1993;341:830-1.
3. Demaerschalck I, Ben Messaoud A, De Kesel M, Hoyois B, Lobet Y, Hoet P, et al. Simultaneous presence of different *Borrelia burgdorferi* genospecies in biological fluids of Lyme disease patients. *J Clin Microbiol* 1995;33:602-8.
4. Nohlmans LMKE, De Boer R, Van Den Boggard AEJM, Van Boven CPA. Genotypic and phenotypic analysis of *Borrelia burgdorferi* isolates from the Netherlands. *J Clin Microbiol* 1995; 33:119-25.
5. Nakao M, Miyamoto K. Mixed infection of different *Borrelia* species among *Apodemus speciosus* mice in Hokkaido, Japan. *J Clin Microbiol* 1995;33:490-2.

Epidemiología y Relaciones Evolutivas entre cepas de HIV Subtipo F Rumano y Brasileño

La clasificación inicial del virus del HIV-1 como las cepas Africanas u Occidentales han sido reemplazadas por la subtipificación filogenética que usa datos de secuencia de nucleótidos. En HIV-1 han sido definidos ocho linajes o subtipos distintos de A a H, (1). Considerando que el valor de la evolución del genoma del HIV-1 se estima en 0,5% a 1% al año y que la distancia genética promedio entre los subtipos de HIV-1 es aproximadamente 20%, es probable que estos subtipos se originaran antes de la pandemia del HIV-1 (1). El mosaico global de los subtipos del HIV-1 es consistente con la hipótesis que la mayoría de las epidemias regionales comenzaron con la introducción de uno o de unas pocas variantes que se diversificaron localmente más que mediante olas radiantes de subtipos de HIV-1 ya diversificados que se diseminaron desde el lugar de origen. En este informe, nos abocamos a las relaciones evolutivas epidemiológicas entre el subtipo F del virus del HIV-1 recientemente identificados en dos regiones geográficamente distintas, Rumania y Brasil.

La epidemia de HIV-1 entre niños huérfanos Rumanos que viven en orfanatos fue reconocido durante los años 1989-1990 (2). Los estudios epidemiológicos han mostrado que la mayoría de los niños llegaron a infectarse por transmisión horizontal del HIV-1 mediante transfusiones de sangre o mediante el uso de equipo médico sin esterilizar. Hemos mostrado por análisis de secuencia de nucleótidos que todos los aislamientos de HIV-1 de niños en Rumania del sudeste están altamente relacionados genéticamente (3). La distancia nucleótido promedio interpersonal dentro de la región C2-V3 del gen *env* fue 0,9% a 3,6%. El análisis filogenético de estas secuencias mostró que las cepas de HIV-1 Rumano agrupadas juntas con una sola cepa de HIV-1 Brasileña en un clade evolutivo anteriormente no reconocido luego designado como subtipo F. Ahora tenemos la oportunidad de aumentar esta comparación con subtipos adicionales de secuencias de F de los dos países y para fomentar el estudio de la relación entre los virus Rumanos y Brasileños. En el análisis filogenético de las secuencias de nucleótidos del envelope C2-V3 (Figura 1), incluimos ocho subtipos del virus de HIV-1 F aislados de niños en el sudoeste de Rumania (L19570-L19579) (3) así como también dos secuencias

representativas del virus del HIV-1 encontrados en niños que viven en Rumania norcentral (R18586 y R18598) (Banda et al., manuscrito en preparación). Desde Brasil, incluimos, además de la secuencia de la primer cepa subtipo identificado de F (BRA7944) (4), tres secuencias F recientemente reportadas (BZ126A, BZ162A, y BZ163A) (5) y cuatro cepas F (BR46, BR57, BR58, y BR59) aisladas en nuestro laboratorio de pacientes en Río de Janeiro. También incluimos dos cepas de HIV-1 de Camerún, CA4 y CA20, que se han clasificado tentativamente como subtipo viral F (1,6) y las secuencias de referencia de nucleótidos representando los otros subtipos de HIV-1.

Los resultados de este análisis filogenético muestran que las secuencias Brasileño y Rumanas se agrupan en dos grupos altamente relacionados pero separados. La distancia genética entre las secuencias del subtipo F Brasileño fueron del 5% a 13,8%, que están dentro de los valores límites establecidos para la distancia intrasubtipo (1). Entre la secuencia de nucleótidos Romanian C2-V3 esta distancia fue 0,9% a 6,5%, y entre los dos grupos fue 7,5% a 12,9%. Estos valores apoyan la inclusión de los grupos Rumanos y Brasileños dentro del mismo subtipo F de HIV-1. La confiabilidad de estos resultados filogenéticos fue verificada por el análisis de lanzamiento automático (100 conjuntos de datos) y por el método poda, que consiste en remover secuencialmente las diferentes cepas y volver a correr el análisis.

Las dos secuencias de Camerún sólo se asociaron débilmente con los grupos Rumanos y Brasileños, y esta asociación no fue estable. La distancia genética entre las secuencias Rumanas y Brasileñas y las secuencias de Camerún fue de 16,5% a 24,1%, que es típicas de distancias genéticas intersubtipo más que intrasubtipo. Nuestro análisis no apoya un fuerte enlace entre las cepas de Camerún y los otros subtipos F del virus; sin embargo, en términos evolutivos, estos virus pueden estar más cerca el uno al otro que de los otros subtipos, o pueden haber experimentado una evolución convergente dentro de la región de envoltura que nosotros analizamos. El análisis de secuencias adicionales de otras regiones del genoma HIV-1 puede aclarar la relación entre la cepa de Camerún y los otros subtipos.

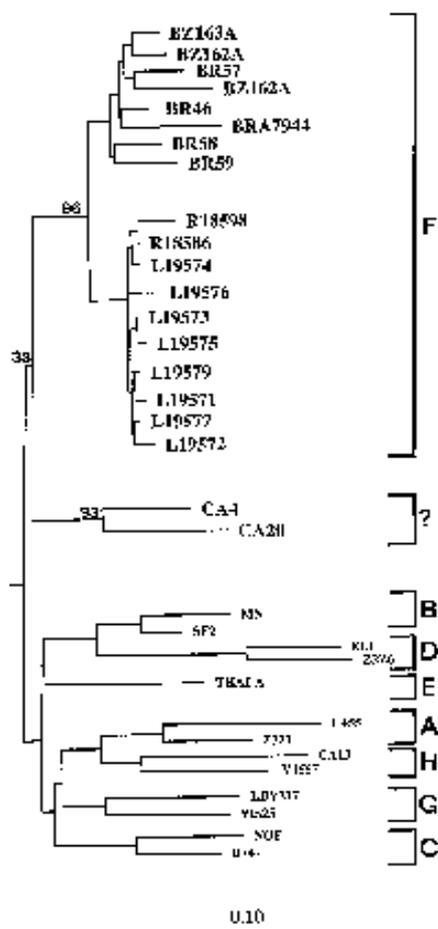


Figure 1. Relación filogenética entre las secuencias de nucleótidos de los subtipos F Rumano y Brasileños. Los tres fueron construidos usando el método de "neighbor joining" incluidos en el paquete Phylip 3.5c (7). Trescientos dos nucleótidos de la región de envoltura C2-V3 fueron usados para el análisis. La distancia vertical entre las ramas no es informativa y sólo se realiza para claridad. El número de ramas indica valores de salto. La secuencia de nucleótidos entre las cepas puede ser deducida por el uso de la barra incluida en la figura.

El patrón amino-ácido GPGR en la extremidad del loop de la proteína V3 ha sido considerada una secuencia de impronta para el subtipo F Brasileño (5). Este patrón relativamente conservado fue perceptible debido a la característica entre los subtipos de virus B, considerando la secuencia predominante de GPGQ entre todas las cepas HIV-1, incluyendo todo el virus inicial F Rumano. Dos de las nuevas cepas Brasileñas identificadas (BR58 y BR59), sin embargo, contenían el patrón GPGQ, y la cepa Romanian R18598 contiene el patrón GPGH (Figura 2). Filogenéticamente, estas secuencias se agrupan con sus clusters geográficos respectivos (Figura 1), que indica que mutaciones independientes pueden haber ocurrido en este locus.

Como fue indicado antes, la distancia genética entre las secuencias de nucleótidos de HIV-1 Rumanos es muy pequeña, lo que sugiere un nexo epidemiológico directo entre estas cepas y un período corto de evolución. La presencia exclu-

siva de virus altamente relacionados en dos provincias geográficamente distintas de Rumania sugiere fuertemente que la epidemia inicial pediátrica de HIV-1 en este país comenzó de una fuente infecciosa única. Esta sugerencia es también apoyada por el hecho que ese subtipo viral F son infrecuentes y, por lo tanto, las oportunidades para la introducción múltiple independiente de cepas altamente relacionadas de las cepas del subtipo F en Romanas de niños son muy bajas. Aunque ningún dato de secuencia de nucleótidos están disponibles acerca de las cepas de HIV-1 circulantes en la población adulta en Rumania, los estudios epidemiológicos y serológicos indican que el número de infecciones es pequeño, y probablemente la mayoría de los adultos infectados por HIV-1 se infectaron por contacto sexual con visitantes extranjeros o con Rumanos que viajaron afuera el país (2). Es de esperar, por lo tanto, que la mayoría de las cepas de HIV-1 que infectan a los adultos representan los subtipos prevalentes internacionalmente. Es remotamente posible, sin embargo, que los adultos se infectaran con virus subtipo F y podrían haber servido como el original o los transportadores intermediarios para la transmisión del HIV-1 entre los grupos de niños que viven en regiones geográficas distintas de Rumania.

En Brasil, la relativamente larga distancia genética entre el subtipo F de virus podrían indicar que un ascendiente único se introdujo durante las fases tempranas del HIV-1 epidémico y que divergió localmente, o que múltiples diferentes cepas F se introdujeron a este país. La baja prevalencia del subtipo F viral a través del mundo hace la alternativa última menos probable. Sin embargo, no hay información disponible sobre las cepas de HIV-1 presentes durante las fases iniciales de la epidemia en Brasil. Nuestro estudios en proceso y los datos publicados (4,5) indican que las infecciones por el HIV-1 subtipo F representan groseramente el 10% del número estimado de casos. Este número relativamente grande de infecciones del subtipo F y la tasa estimada de divergencia del HIV-1 sugiere una introducción temprana del subtipo F viral en Brasil.

A causa de la posición geográfica y la dispersión de las relaciones socio-económicas entre Rumania y Brasil, la potencialidad para un nexo epidemiológico entre el HIV-1 subtipo F viral es pequeño. Un argumento más obligado contra un nexo epidemiológico directo entre el subtipo F viral de estos dos países pueden hacerse en base de la topología de las ramas filogenéticas que colocan aparte los dos grupos de virus (Figura 1). Si un nexo epidemiológico directo existió entre los dos grupos, el agrupamiento sería integral con un grupo de bifurcación desde dentro de la otra. El árbol topológico muestra los dos grupos de virus sobre ramas separadas con un

```

F CON      NAKTIIVHLNESVQINCFEPMNTRKSDHLGFGRAFYTTGDIIGDIRKAKCNVBSOTQWNETLERVEAELEKSHF.PNATIKFWSBSSCGDLEITMHSFNCRCGEFFVCNT
BR46      .T-----S-----S-----A--E-----I--E-----G-----T-----
BR57      --I-----Y-----M--G-----A-----Q-K-E--A-----I
BR58      . . . . .I . . . . .Y-----Q--A-----T-----K-----V-CNTT-VI--A-----Y-----
BR59      -T-N-----T-----R-F-----Q-----K-----Q-KE--Y-B--T--I-----
BR47944    . . . . .L-T-----G-Q-----T--A--E-----N-S--E--RQ--EIG
BR163A     . . . . .F-----Y-----YF-----H-A-K-----M-----RQ-----EIG-----T-----
BR162B     . . . . .F-----G-T-----A--K-----Q-----
L19576     -T-----T-----Q-----N-VH--E--QPL--E--G-----
L19598     -T-D-----E-----N-VQ--H--E-----R--S-----
CA4        -H-----QF-R-E-----I-----A-----Y-VJNK-J--D--NK-VKAFYKKA--L-VI--R-A-----T-----
CA20       .I-I--Q-R-E-----RI--QV--A-----Y-BINI-L--E--NQ-VREF-KLDENITN-T-SP----F--T--K--Y--
A CON      . . . . .Q-VKE-E-----V-I--Q--A-----Q- I R E . . . QQ ATQ-REY . . E . I AN . . . T . . . C . . .
J CON      . . . . .Q--E-----I-----H-----Q--KAK-N--KQLVK--REY--G-K--V--Q-----V-----G-----
C CON      -V-----E-V-----KI--QT--L-----Q--I-KEE--Q--GK--LEE--K--AP-----T-----
D CON      . . . . .Q--T--Y--QRT-I--Q-L--R-----Q--Y--AE--QQ-AK--GDLI-NMT--I-KP-----T-----G-----
E CON      . . . . .K-E-----S--T--TI--QV--R-----Y EIM . K EA KQ TE--EE--E-K--I-QPT-----H-----

```

Figura 2. Alineamiento de la secuencia de aminoácidos de la región de envoltura C2-V3 las cepas de HIV-1 Rumana y Brasileña subtipo F y su comparación con la secuencia de Camerún y la secuencia consensuada para algunos otros subtipos F CON representa la secuencia de aminoácidos (código de una letra) por los subtipos F Rumano y Brasileño de HIV-1 presentado en la figura. La secuencia consensuada para los otros subtipos son de la Ref. 1. Los aminoácidos idénticos al F CON se muestran como una línea, y los puntos representan un intervalo introducidos para alinear secuencias. La barra superior muestra al péptido de la proteína loop V3.

ascendiente común relativamente distante. Aunque limitado en el alcance, nuestros hallazgos apoyan una relación evolutiva entre los virus del subtipo F Rumano y Brasileño e indican que las dos epidemias regionales provinieron independientemente.

Claudiu I. Bandea, * Artur Ramos, * Danuta Pieniazek, * Rodica Pascu, & Amilcar Tanuri, # Gerald Schochetman, * and Mark A. Rayfield *
** National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA; # Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil; & University of Medicine and Pharmacy, Tg-Mures, Romania*

Referencias

1. Myers G, Korber B, Wain-Hobson S, Smith R, Pavlakis G, eds. Human retroviruses and AIDS 1994: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory, 1993.
2. Hersh BS, Popovici F, Apetrei RC, et al. Acquired immunodeficiency syndrome in Romania. Lancet 1991;338:654-9.
3. Dumitrescu D, Kalish ML, Klicks SC, Bandea CI, Levy JA. Characterization of human immunodeficiency virus type 1 isolates from children in Romania: identification of a new envelope subtype. J Infect Dis 1994;169:281-8.
4. Potts KE, Kalish ML, Lott T, et al. Genetic heterogeneity of the V3 region of the HIV-1 envelope glycoprotein in Brazil. AIDS 1993; 7:1191-7.
5. Louwagie J, Delwart EL, Mullins JI, McCutchan FE, Eddy G, Burke DS. Genetic analysis of HIV-1 isolates from Brazil reveals presence of two distinct genetic subtypes. AIDS Res Hum Retroviruses 1994;10:561-7.
6. Nkengasong JN, Janssens W, Heyndrickx L, et al. Genotypic subtypes of HIV-1 in Cameroon. AIDS 1994;8:1405-12.
7. Felsenstein J. PHYLIP-phylogeny interference package (version 3.2). Cladistics 1989;5:164-6.

La Comunicación Electrónica Facilita la Investigación de un Brote de alta dispersión: *Salmonella* en la super carretera

Los brotes ampliamente dispersos de enfermedades de origen alimenticio son un problema emergente de salud pública (1-3). El aumento de la movilidad de la población y la amplia distribución de los alimentos producidos centralmente significan que cuando un brote de enfermedad alimenticia ocurre, las personas afectadas pueden distribuirse a través de el país o aún del mundo. Los brotes ampliamente dispersos desafían los limitados recursos de salud pública; pueden ser difíciles detectar, laboriosos, y consumir mucho tiempo para investigarlos. Nosotros informamos la rápida y eficiente investigación de un brote ampliamente disperso interestatal mediante la comunicación electrónica entre los pacientes posibles y trabajadores de salud pública.

El 4 de Agosto de 1994, un residente de un estado occidental contactó a los Disease Control and Prevention (CDC) observando un posible brote de enfermedad alimenticia. El 22 de Julio, el día después de volver desde una conferencia en Baltimore que incluyó concurrentes desde todos los 50 estados, comenzó a sentirse mal con diarrea, y se aisló *Salmonella* de su materia fecal. Se contactó a otros cuatro concurrentes a la conferencia que habían tomado el mismo vuelo. Uno de éstos también tuvo cultivo confirmado de infección por *Salmonella*; un segundo, que tomó antibióticos por otras razones, tuvo una enfermedad diarreaica con un cultivo de heces negativo, y dos tuvieron enfermedades diarreaicas no específicas. A causa de la posibilidad de un brote multiestatal que involucrara la aerolínea o la conferencia y afectando mucha gente, iniciamos una encuesta de los concurrentes a la conferencia para determinar el valor y correlacionar la enfermedad diarreaica.

Tradicionalmente, las encuestas de poblaciones dispersas han sido conducidas o por teléfono, requiriendo muchas horas-hombre de entrevista, o por correo, conduciendo a muchos días de demora mientras los cuestionarios se distribuyen y vuelven. Sin embargo, en este caso, la organización que patrocinó la conferencia tuvo un sistema de correo electrónico interno (e-mail). Cada sección de la organización, aunque no cada persona, tuvo una computadora en la que puede recibir mensajes de e-mail. El 5 de Agosto de 1994, la oficina de organización central envió un e-mail con un cuestionario, desarrollado en consulta con los CDC, a todas las computadoras en la organización con instrucciones al personal de

la organización para imprimir y distribuir el cuestionario a los concurrentes a la conferencia. El cuestionario contenía artículos que se refieren a la enfermedad diarreaica, exposiciones de vuelo y comida, e información demográfica. Debido a que la organización del sistema de e-mail fue sólo interna, las respuestas no podrían hacerse al CDC por e-mail. Por lo tanto, los concurrentes fueron instruidos para enviar sus cuestionarios completos al CDC por fax. Por Agosto 12 (7 días después), respuestas suficientes se habían recibido para evaluar el vuelo y la conferencia como fuentes de un brote de salmonelosis (Figura).

De 390 personas registradas en la conferencia, 86 (22%) cuestionarios retornaron por Agosto 12. Un cuestionario fue vuelto por el paciente índice que hizo el llamado inicial al CDC pero no por las otras cuatro personas que él contactó como pasajeros en el mismo vuelo. Seis (7%) de las 86 respuestas enviadas tenían diarrea (tres o más deposiciones en un período de veinticuatro horas) durante el lapso que comienza 12 horas después del inicio de la conferencia y que terminó 5 días después del fin de ésta (Julio 20 a 26). Entre las respuestas al cuestionario, sólo el paciente índice fue diagnosticado con salmonelosis. Tres de los que respondieron habían tomado inicialmente un vuelo sospechoso. La enfermedad no fue asociada con tomar el mismo vuelo del paciente índice ($p=0,20$, Prueba Exacta de Fisher, 2-tailed).

Para continuar investigando los informes de diarrea, entrevistamos las seis personas que informaron enfermedad diarreaica por el cuestionario, así como también las cuatro personas inicialmente llamadas por el paciente índice quienes no habían completado los cuestionarios. Este grupo incluyó las dos personas con infección conocida de *Salmonella*, de los cuales uno había completado un cuestionario y uno no. Siete de las otras ocho personas tenían síntomas leves, no específicos de menos de 2 días de duración; las fechas de iniciación de sus enfermedades fueron de un período de 5 días, y ninguno buscó atención médica. Debido a que pocos concurrentes a la conferencia o pasajeros de vuelos llegaron a enfermarse con síntomas sugestivos de salmonelosis durante el período probable, nosotros pensamos que un avión -o la conferencia- asociado al brote fue improbable. Por Septiembre 9, los cuestionarios de los concurrentes de conferencia devueltos fueron 156 (40%). No se

informaron casos adicionales de diarrea, confirmando nuestra conclusión inicial que las infecciones de Salmonella no estaban asociadas con el vuelo o la conferencia.

Los aislamientos de Salmonella se identificaron en el CDC como Salmonella serotipo Norwich, del serogrupo C1 de Salmonella. *S. Norwich* es rara; en 1993 y 1994, respectivamente, 63 y 102 aislamientos de este serotipo fueron informados al Public Health Laboratory Information System (PHLIS), un laboratorio para toda la nación basado en el sistema de vigilancia electrónico que colecta y resume datos sobre aislamientos desde laboratorios estatales de salud pública (4). Debido a que la infección con *S. Norwich* es tan infrecuente, todavía pareció probable que las dos infecciones podrían tener una fuente común, tal como un restaurante.

La investigación subsiguiente fue enfocada en las comidas que las dos personas con salmonelosis compartieron fuera de la conferencia y finalmente revelar la fuente, un restaurante en Baltimore. A fines de Julio de 1994, el Maryland Department of Health and Mental Hygiene recibió informes que Salmonella, serogrupo C1, había sido aislada de cinco otras personas que visitaron Baltimore alrededor del tiempo de la conferencia. Dos personas de una familia habían conducido a Baltimore en Julio 17, comieron sólo en un restaurante, entonces volvieron al estado de su hogar en Pensilvania. Tres personas en una segunda familia, de una parte diferente de Pensilvania, comieron en el mismo restaurante de Baltimore en Julio 21 durante un viaje de vacaciones. Los aislamientos de Salmonella de miembros de ambas familias fueron inicialmen-

te mal identificados como otro serotipo del serogrupo C1. Fueron vueltos a analizar debido a este brote y se confirmaron como *S. Norwich*. Ambos concurrentes de la conferencia con infección de *S. Norwich* también comieron en el restaurante implicado en Julio 21. No hubo un único menú comido por todas las personas que se enfermaron. Con respecto a una queja por la primera familia, el restaurante había sido inspeccionado por el departamento local de salud; se encontraron múltiples violaciones de regulaciones de seguridad alimentaria. *S. Norwich* fue aislada de una muestra de heces de un empleado que informó una enfermedad diarreica que comenzó el 22 de Julio y que comió alimento del restaurante. Al mes siguiente la inspección del Restaurante A y la subsiguiente acción correctora, se informaron nuevos casos de *S. Norwich* al PHLIS desde Maryland o Pensilvania.

El E-mail puede acelerar la distribución del cuestionario, especialmente cuando la población de interés está en una de red. El sistema de computadora usado para enviar el mensaje en e-mail en este brote no estaba vinculada a concurrentes individuales de la conferencia; por lo tanto, no podríamos evaluar la tasa en que los concurrentes individuales obtuvieron y respondieron al mensaje. Si hubiéramos sido capaces de localizar a los concurrentes directamente, nuestro valor de respuesta pudo haber sido más alto, y habríamos sido capaces de enviar mensajes adicionales a los que no respondieran. En el futuro, cuando los brotes ocurran entre personas accesibles por e-mail, puede ser posible evaluar estrategias para mejorar el valor de respuesta y para comparar la eficacia de la entrega de cuestionarios por e-mail y por medios más tradicionales.

Este brote ilustra la utilidad de la rápida comunicación electrónica en la salud pública. El aislamiento de un serotipo raro de Salmonella y el informe electrónico nacional a PHLIS asistió en la detección e investigación de un brote multiestatal ampliamente disperso de salmonelosis. Sin el sistema nacional de serotipificación de Salmonella, el brote no se habría reconocido. Los cuestionarios se distribuyeron rápidamente por e-mail; la utilidad de este método es probable que aumente tanto más cuanto más gente llegue a tener acceso al e-mail. El fax proveyó unos medios para el retorno de los cuestionarios rápidamente. El análisis en línea de los datos de vigilancia con el PHLIS confirmaron que el brote fue controlado. La rápida comunicación entre los trabajadores de salud pública en Maryland y Pensilvania y en los CDC fue también esencial. La utilidad de la comunicación electrónica no está limitada a la investigación del brote. Las nuevas tecnologías indudablemente continuarán siendo útiles para dirigir los problemas emergentes de salud pública.

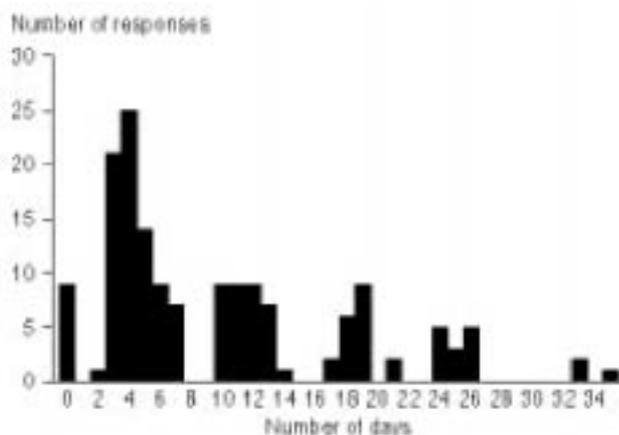


Figura 1. Número de días desde la distribución del cuestionario por e-mail que retornaron por FAX (n=156). El día 0 es Viernes, 5 de Agosto de 1994. Rango 0 a 35 días; mediana= 6 días.

Barbara E. Mahon, * Dale D. Rohn, # Sheila R. Pack, & Robert V. Tauxe *
** National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA;*
Epidemiology and Disease Control Program, Maryland Department of Health and Mental Hygiene, Baltimore, Maryland, USA; & Division of Acute Communicable Diseases (now in Division of HIV Seroepidemiology), Baltimore City Health Department, Baltimore, Maryland, USA

Referencias

1. Tauxe RV. Salmonella: a postmodern pathogen. *J Food Protection* 1991;54:563-8.
2. Hedberg CW, MacDonald KL, Osterholm MT. Changing epidemiology of food-borne disease: a Minnesota perspective. *Clin Infect Dis* 1994;18:671-82.
3. Hedberg CW, Levine WC, White KE, Carlson RH, Winsor DK, Cameron DN, et al. An international foodborne outbreak of shigellosis associated with a commercial airline. *JAMA* 1992;268:3208-12.
4. Bean NH, Martin SM, Bradford H. PHLIS: an electronic system for reporting public health data from remote sites. *Am J Public Health* 1992;82:1273-6.

La Reemergencia del Virus del Ebola en Africa

Los miembros de la familia *Filoviridae*, que actualmente consiste en los virus del Ebola y Marburg, ocasionan severas y frecuentemente mortales fiebres hemorrágicas en humanos y primates no humanos. La identificación y aislamiento reciente de un nuevo virus del Ebola de un solo caso humano no fatal en Côte d'Ivoire (1) y el brote más reciente de fiebre hemorrágica del Ebola en y alrededor de Kikwit, Zaire (2,3), ha elevado el interés sobre la amenaza en la salud pública de estos patógenos humanos. Los *Filovirus* se clasifican como agentes de nivel 4 de bioseguridad a causa de la extrema patogenicidad de ciertas cepas y la carencia de una vacuna protectora o de una efectiva droga antiviral. Además, los filovirus están entre los grupos de virus más misteriosos conocidos porque sus reservorios y la historia natural permanecen indefinidos y sus patogénesis es pobremente entendida.

Las infecciones virales del Ebola fueron primariamente reconocidas en 1976, cuando brotes simultáneos pero separados de enfermedad humana ocasionados por dos subtipos virales distintos irrumpieron al norte del Zaire y el sur de Sudán (4) y resultó en centenares de muertes. El subtipo Zaire del virus del Ebola tuvo un alto caso-fatalidad, aproximadamente 90%, mientras el subtipo Sudán tuvo un caso-fatalidad de un valor de aproximadamente del 50%. Antes de 1995, el último brote identificado de enfermedad del Ebola en Africa ocurrió en 1979, cuando el subtipo Sudán del virus del Ebola infectó a 34 personas (5). A fines de 1989, en Reston, Virginia, un nuevo virus del Ebola infectó una colonia de macacos *cynomolgus* que se habían importado desde las Filipinas (6). El nuevo virus, llamado Virus Reston, identificado por investigadores en los Centers for disease Control and Prevention (CDC) mostró ser antigénica y genéticamente distinto del virus Ebola Africano, aún a pesar de su alta patogenicidad para primates no humanos, no pareció ocasionar enfermedad en humanos. Varias personas que manejaron los animales infectados desarrollaron anticuerpos al virus del Ebola pero ninguno mostró señales de enfermedad; una de estas personas se infectó mientras desempeñaba una necropsia sobre un animal que había muerto de una infección del virus Reston. En 1992, una repetición del episodio Reston de 1989 ocurrió en Siena, Italia cuando se recibieron macacos del mismo exportador Filipino; no se encontró evidencia de una infección humana

(7). El nuevo virus del Ebola recientemente aislado de un paciente en Côte d'Ivoire se ha mostrado genéticamente distinto de los aislamientos previos del Ebola (A. Sanchez, datos inéditos) y es la primer evidencia del virus del Ebola en el Oeste Africano.

Las investigaciones de estos brotes, así como también de aquellos causados por el virus de Marburg, tienen aún que producir evidencias considerables para el hospedador natural (s) de filovirus. Los Filovirus no persisten en primates no humanos experimentalmente infectados por lo tanto, los primates no humanos son los probables hospedadores naturales. Como los humanos, estas especies probablemente se infectan cuando entran en contacto indirecto o directo con el hospedador natural.

Las recientes noticias de un gran brote de Ebola en Kikwit, Zaire, alarmó a la audiencia en todo el mundo ya sensibilizada por un conjunto de libros, artículos de revista, programas de televisión, y películas que tratan el peligro de la enfermedad por el virus del Ebola. El interés público es resaltado por la potencialidad de la diseminación de estos virus a regiones alejadas del mundo como resultado del viaje internacional y comercio en avión. El brote de Kikwit fue parecido al original de 1976 el episodio en Zaire, se centró alrededor la aldea pequeña de Yambuku unos 1000 km al norte (8). Como en el brote de 1976, la transmisión secundaria del virus en Kikwit ocurrió mediante contacto personal estrecho con sangre infecciosa y otros fluidos corporales y fue facilitado por la carencia de instalaciones médicas modernas y el abastecimiento médico que puede protegerlos brindando cuidado a los pacientes inicialmente afectados. La diferencia principal entre el episodio de Yambuku y el brote de este año es que Kikwit es un centro grande y densamente poblado cerca de grandes ciudades, tales como Kinshasa y Brazzaville, y la potencialidad para la transmisión a toda la comunidad y la diseminación a áreas vecinas es mayor. La vigilancia retrospectiva de caso sugiere que el caso índice puede haber sido un obrero del carbón que trabajó en el bosque afuera de Kikwit. La transmisión humano-humano ocurrió sin ser reconocida hasta fines de Abril de 1995. La fiebre hemorrágica del Ebola se sospechó cuando las infecciones nosocomiales en los equipos quirúrgicos y en el personal de enfermería siguieron a repetidas laparotomías en un técnico laboratorio infectado en el Kikwit General Hospital. Los especímenes se enviaron al CDC mediante el Tropical Institute of Antwerpen (Bélgica). Los equipos de expertos del CDC, la organización Mundial de la Salud, Bélgica, Francia, Sudáfrica, y Suecia viajaron a la región para ayudar en la implementación del seguro cuidado del paciente, gestión, y contención del brote del virus del Ebola. A partir

de Julio 1, 1995, 233 muertes se habían informado entre los 293 casos.

La caracterización y diagnóstico rápido del virus del Ebola se realizó en los CDC en Atlanta sobre los especímenes de sangre de 14 pacientes recibidos en Mayo 9. Nueve horas después que las muestras habían sido entregadas al CDC, se confirmó al virus del Ebola por antígeno y/o anticuerpo a este virus en especímenes desde 13 de los pacientes. Cuatro horas después, la prueba de reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa-reversa (RT-PCR) sobre regiones conservadas de la polimerasa del filovirus o de los genes de la glicoproteína del virus del Ebola detectó el RNA del virus en 12 de los pacientes. El análisis subsiguiente del perfil genético del virus fue especialmente importante para comprender la epidemiología del brote de Kikwit. Dentro de 48 horas de recibir los especímenes, el análisis de secuencia del DNA (528 pb) amplificado del gen de la glicoproteína por PCR derivado de cuatro pacientes diferentes mostró que el virus del Ebola era un subtipo Zaire que difirió de la cepa original de 1976 en cuatro bases (<1%). No se observaron diferencias cuando los productos del PCR del gen de la polimerasa (~350 pb) de esos cuatro pacientes fueron secuenciados, lo que indicó que se habían infectado con el mismo virus. Tres días después, los datos de secuencia del análisis expandido del gen de la glicoproteína entera se compararon con los del aislamiento original de 1976 Yambuku (9) y mostró que la diferencia total entre estos virus del Ebola fueron menos del 1,6%. Tan poco cambio viral que ocasionaron brotes de enfermedad en extremos fines del Zaire separados por un trecho de aproximadamente 19 años, pueden indicar que el genoma del virus del Ebola (y los filovirus en general) son inusualmente estables y han evolucionado para ocupar nichos especiales en la naturaleza.

La capacidad de un diagnóstico rápido y característico de las infecciones por filovirus es crítica a la capacidad de los profesionales de salud pública para identificar y limitar la diseminación de brotes futuros de enfermedad por filovirus. Un compromiso continuado para investigar y para los modernos programas de vigilancia de la enfermedad es necesario para minimizar o excluir los brotes por filovirus similares a los de Kikwit. La posibilidad de brotes es cada vez más probable dada las continuadas incursiones humanas en los bosques Africanos y la vulnerabilidad de las grandes poblaciones empobrecidas a la transmisión rápida de enfermedad como resultado de inadecuados servicios de salud pública. Con el brote actual bajo control, los CDC y los colaboradores han comenzado sus esfuerzos para identificar el hospedador natural mediante envíos de equipos de científicos a recolectar es-

pecímenes del área donde el paciente putativo índice trabajaba. Los intentos de identificar el reservorio después de brotes en 1976 y 1979 fueron ineficaces por la carencia de herramientas diagnósticas satisfactorias que son críticas para detectar cantidades pequeñas del virus. Sin embargo, ahora que un inmunoensayo enzimático sensible y los análisis de PCR se han desarrollado para filovirus, las oportunidades son mucho mejores que, si los materiales apropiadas pueden recolectarse en el campo, el virus puede detectarse.

En conclusión, queremos médicos alertas y agencias de salud pública que encuentren personas que tienen síntomas y signos clínicos de enfermedad hemorrágica reemergente de fiebre del virus del Ebola. Las recomendaciones para el manejo de la fiebre hemorrágica atribuibles a filovirus en los Estados Unidos se publicaron recientemente en *Morbidity and Mortality Weekly Report* (1995; 44:475-79).

Anthony Sanchez, Thomas G. Ksiazek, Pierre E. Rollin, Clarence J. Peters, Stuart T. Nichol, Ali S. Khan, and Brian W. J. Mahy
National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA

Referencias

1. Le Guenno B, Formenty P, Wyers M, Gounon P, Walker F, Boesch C. Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet* 1995;345:1271-4
2. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of Ebola viral hemorrhagic fever Zaire, 1995. *MMWR* 1995;44:381-2.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Update: outbreak of ebola viral hemorrhagic fever Zaire, 1995. *MMWR* 1995;44:399.
4. Bowen ETW, Platt GS, Lloyd G, Baskerville A, Harris WJ, Vella EC. Viral haemorrhagic fever in southern Sudan and northern Zaire: preliminary studies on the aetiological agent. *Lancet* 1977;1:571-3.
5. Baron RC, McCormick JB, Zubeir OA. Ebola virus disease in southern Sudan: hospital dissemination and intrafamilial spread. *Bull WHO* 1983;62:997-1003.
6. Jahrling RB, Geisbert TW, Dalgard DW, et al. Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. *Lancet* 1990;335:502-5.
7. World Health Organization. Viral haemorrhagic fever in imported monkeys. *Wkly Epidemiol Rec* 1992;67:142-3.
8. World Health Organization. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. *Bull WHO* 1978;56:271-93.
9. Sanchez A, Kiley MP, Holloway BP, Auperin DD. Sequence analysis of the Ebola virus genome: organization, genetic elements, and comparison with the genome of Marburg virus. *Virus Res* 1993;29:215-40.

Posibilidades para el Control de la Fiebre Hemorrágica Boliviana

La fiebre hemorrágica Boliviana (BHF) fue primero identificada en 1959 como una enfermedad hemorrágica esporádica en áreas rurales del departamento de Beni, Bolivia. Los grupos de pacientes de BHF se notaron el mismo año, y por 1962 la BHF se reconoció como una enfermedad infecciosa epidémica nueva. En 1963, el virus Machupo (un miembro de la familia *Arenaviridae*) fue primero aislado de pacientes con fiebre hemorrágica aguda en San Joaquín, Bolivia (1). Las investigaciones ecológicas establecieron al roedor *Calomys callosus*, que es indígena a la región endémica de la enfermedad en el norte de Bolivia, como el reservorio del virus Machupo (2,3).

La infección del virus Machupo en *C. callosus* resulta en una infección asintomática con eliminación de virus por saliva, orina, y excrementos; el 50% de los *C. callosus* infectados experimentalmente tienen viremia crónica y eliminan virus en sus secreciones o excreciones corporales (2). Aunque la dosis infecciosa del virus Machupo en humanos es desconocido, las personas expuestas pueden llegar a infectarse por inhalar virus aerosolizado, que es eliminado en secreciones o excreciones de roedores infectados, por comer alimento contaminado con excreta de roedor, o por contacto directo de excretas con la piel erosionada o de las membranas mucosas orofaríngeas (4). Los informes de transmisión persona a persona son infrecuentes; sin embargo, el contacto dentro del hospital con un paciente resultó en la diseminación persona a persona del virus Machupo al personal de laboratorio de patología y enfermería (5). En 1994, la infección secundaria mortal de seis miembros de una familia en Magdalena desde una sola infección naturalmente adquirida sugirió luego la potencialidad para la transmisión persona a persona (Ksiazek et al., manuscrito en preparación).

La patogénesis del BHF, que parece al de otras fiebres hemorrágicas sudamericanas debidas a infección por Arenavirus (p. ej., Fiebre Hemorrágica Argentina), ha sido descrita en investigaciones clínicas y patológicas de pacientes naturalmente infectados (6,7). La infección experimental de monos rhesus con virus Machupo demostró un período de incubación de 7 a 14 días, que es consistente con observaciones clínicas en infección humana (8). Las manifestaciones clínicas iniciales en humanos son caracterizadas por signos y síntomas no específicas, incluyendo fiebre, dolor de cabeza, agotamiento, mialgia, y artralgia. Luego en el curso de la enfermedad (comúnmente dentro de los 7 días de iniciación), los pacientes pueden desarrollar signos de hemorragia, incluyendo sangrado desde las mucosas orales y nasal y desde el tracto broncopulmo-

nar, gastrointestinal, y genitourinario.

Durante la epidemia de BHF en el decenio de 1960, el control del roedor se reconoció como el método primario para la prevención de la transmisión del virus Machupo (9). Como *C. callosus* fue encontrado frecuentemente en el ambiente doméstico y peridoméstico, las medidas de control del roedor (p. ej., atrapado, envenenado) resultó en una reducción inmediata en el número de *C. callosus* y el control de brotes de BHF; una epidemia en 1964 terminó después de 2 semanas de capturas continuas del *C. callosus* en hogares de la comunidad afectada (10). Los programas de control de roedores llegaron a ser una nueva prioridad para los funcionarios de salud en Bolivia, y programas de intervención activa se efectuaron desde hace muchos años por los supervivientes de las pasadas epidemias de BHF conocidos como inmunes al virus Machupo (11).

Desde 1973 a 1992, no se informaron casos de BHF, posiblemente a causa del control efectivo de las poblaciones del roedor reservorio (12). Desde finales del decenio de 1960, no han ocurrido epidemias de BHF que involucre comunidades rurales, pero los casos esporádicos recientes se han identificado en la región de enfermedad-endémica (13). Aunque los pacientes con BHF han sido tratados en hospitales fuera de la región endémica de la enfermedad, estos pacientes tuvieron una historia de exposición al virus Machupo en la región endémica de enfermedad o contacto secundario con pacientes de BHF que se infectaron en la región endémica. Además, ningún caso documentado de BHF han sido exportado a otros países.

Concurrentemente con la carencia de identificación de los pacientes con BHF durante la década de 1970 y 1980, el énfasis en los programas de control de roedores en las áreas endémicas de BHF también disminuyeron. Además, en años recientes, los funcionarios Bolivianos de salud han encarado otros numerosos problemas de salud pública, incluyendo enfermedades diarreicas, tuberculosis, enfermedad de Chagas, enfermedades de transmisión sexual, y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Así, las autoridades locales de salud se enfrentan con el desafío de destinar limitados recursos de salud para el control de BHF con demanda de trabajo para otras importantes enfermedades en aumentos.

Las actividades agrícolas dominan la economía del norte de Bolivia donde muchos trabajadores son empleados en cultivos y manejo animal (14). Los trabajadores de granjas pueden residir por períodos prolongados en áreas rurales también habitados por *C. callosus*, y las casas de granjas construidas con paredes parcialmente abiertas pueden permitir el acceso de roedores a la vivienda. Así, la exposición humana a roedo-

res infectados puede ocurrir en y alrededor de los refugios de la granja de trabajadores o durante el trabajo en los campos y tierras de cultivo de la región endémica de BHF. Dado el crecimiento económico proyectado en Bolivia, es probable que el riesgo de los trabajadores agrícolas de exposición al *C. callosus* continuará y aún se incrementará ya que el desarrollo modifica el hábitat natural del roedor reservorio que conduce al aumento de contacto con los humanos (p. ej., enfocado al hábitat del roedor que incrementan su densidad) (15).

Los esfuerzos futuros para controlar la BHF pueden beneficiarse de la reciente experiencia en la vecina Argentina donde un grupo de trabajo en desarrollo ha llevado al control de la Fiebre hemorrágica Argentina (AHF), ocasionado por el virus Junin, un arnavirus genéticamente relacionado al virus Machupo. El estudio extensivo de la AHF por Maiztegui, Enria, y sus colegas han brindado nuevos conocimientos en la epidemiología, patogénesis, tratamiento, y control de esta enfermedad (16,17) y han conducido a una efectiva vacuna Candid # 1 contra el virus Junin así como también a ensayos clínicos fase 2 que sugieren que la ribavirina puede ser efectiva en pacientes con AHF (18,19). El uso de una vacuna efectiva contra AHF y la evidencia de su protección cruzada contra el virus Machupo sugiere que esa vacunación puede jugar un papel en la prevención del BHF para personas con riesgo altísimo, tales como trabajadores que colocan trampas de roedores para los programas de control (20). La ribavirina intravenosa ha sido prometedora para el tratamiento de casos de BHF clínicamente diagnosticado luego confirmados en el laboratorio (Kilgore, manuscrito en preparación). La ribavirina intravenosa también pareció efectiva en el tratamiento de una infección adquirida en el laboratorio con el virus de Sabiá, un Arnavirus relacionado primero aislado en Brasil (21). El laboratorio local que maneja muestras o pruebas efectivas y rápidas como por enzimo inmuno ensayo para antígenos y anticuerpos IgM es idealmente realizada bajo nivel 4 de contención de bioseguridad, pero el uso de gabinetes de seguridad biológica sumado a reactivos baratos como el Triton X-100, que reduce los títulos virales, permite el desarrollo de capacidad para el tiempo real de muestreo.

El grupo familiar de pacientes de BHF y casos esporádicos posteriores en Septiembre y Octubre de 1994 realizó el desafío diagnóstico de BHF para los clínicos. Así los médicos locales pueden evaluar rara vez pacientes de BHF, y de otras enfermedades (p. ej., malaria, fiebre del dengue, y fiebre amarilla) que coexisten en la región endémica del BHF y que pueden parecerse al BHF en las fases tempranas de enfermedad. Además, ninguna de las pruebas diagnósticas fácilmente disponibles existen localmente para diferenciar

al BHF de otras enfermedades (22). Los agentes bolivianos de salud pública y los funcionarios de salud pública reconocieron la necesidad de la educación de los agentes de salud pública y consecutivamente establecieron un programa de adiestramiento que apuntó a incrementar el reconocimiento clínico del BHF particularmente en la región endémica de la enfermedad.

El grupo de pacientes en 1994 también enfocó la atención pública en el BHF porque las enfermedades tuvieron un valor más alto de caso-fatalidad que otras enfermedades en la región donde el BHF es endémico. El sub-reconocimiento de estas enfermedades tan peligrosas y potencialmente mortales en las comunidades de áreas endémicas de enfermedad sugiere la necesidad de aumentar la educación en salud pública para reducir la transmisión y exposición al virus. Las medidas probadas de control deben reforzarse aún en pueblos afectados por epidemias grandes 30 años atrás donde los residentes más jóvenes no tienen recuerdo de la exacta pesada carga del BHF.

La prevención de las epidemias a lo largo de la comunidad mediante los programas de control de roedores pueden combinarse con la aplicación de barreras precautorias (p. ej., guantes, máscaras) en hospitales o clínicas para minimizar la transmisión secundaria persona a persona del virus Machupo. Luego de la agrupación familiar del BHF en 1994, los resultados de capturas de roedores confirmaron la ausencia de reinfestación en los pueblos e indicaron que la densidad de roedores reservorios no fueron inusualmente altos en áreas de exposición probable para el paciente índice. La ausencia de epidemias en la comunidad de BHF sugiere que el control de roedor enfocado en pueblos de la región endémica de enfermedad previno los grandes brotes urbanos. La prevención de enfermedad esporádica en los trabajadores de granja mediante la extensa eliminación de reservorios pueden no ser factibles, pero otras medidas, tales como la administración de la vacuna Candid # 1 de AHF a los trabajadores en riesgo alto, pueden ofrecer una alternativa más realista. Finalmente, los trabajadores agrícolas en la región endémica de la enfermedad deberían enseñarle métodos para reducir la exposición a los roedores reservorios, especialmente alrededor de refugios rurales como medio de reducir su riesgo de exposición al virus Machupo en el ambiente.

Paul E. Kilgore, Clarence J. Peters, James N. Mills, Pierre E. Rollin, Lori Armstrong, Ali S. Khan, and Thomas G. Ksiazek
National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA

Referencias

1. MacKenzie RB, Beye HK, Valverde L, Garron H. Epidemic hemorrhagic fever in Bolivia: a preliminary report of the epidemiologic and clinical findings in a new epidemic area in South America. *J Trop Med Hyg* 1964;13:620-5.
2. Johnson KM, MacKenzie RB, Webb PA, Kuns ML. Chronic infection of rodents by Machupo virus. *Science* 1965;150:1618-9.
3. Johnson KM, Kuns ML, MacKenzie RB, Webb PA, Yunker CE. Isolation of Machupo virus from wild rodent, *Calomys callosus*. *Am J Trop Med Hyg* 1966;15:103-6.
4. Johnson KM. Epidemiology of Machupo virus infection: III. Significance of virological observations in man and animals. *Am J Trop Med Hyg* 1965;14:816-8.
5. Peters CJ, Kuehne RW, Mercado RR. Hemorrhagic fever in Cochabamba, Bolivia, 1971. *Am J Epidemiol* 1974;99:425-35.
6. Stinebaugh BJ, Scholoeeder FX, Johnson KM, MacKenzie RB, Entwisle G, DeAlba E. Bolivian hemorrhagic fever: a report of four cases. *Am J Med* 1966;40:217-30.
7. Child PL, MacKenzie RB, Valverde LR, Johnson KM. Bolivian hemorrhagic fever: a pathologic description. *Arch Pathol Lab Med* 1967;83:434-45.
8. Castello MD, Eddy GA, Kuehne RW. A rhesus monkey model for the study of Bolivian hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1976;133:57-62.
9. Kuns ML. Epidemiology of Machupo virus infection: II. Ecological and control studies of hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1965;14:813-6.
10. Mackenzie RB, Kuns ML, Webb PA. Possibilities for control of hemorrhagic fevers in Latin America. Pan American Health Organization; Scientific Publication No.147:260-265. First International Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man, 1966, Washington, D.C..
11. Mercado R. Rodent control programmes in areas affected by Bolivian hemorrhagic fever. *Bull WHO* 1975;52:691-6.
12. Pan American Health Organization. Bolivian hemorrhagic fever. *Epidemiol Bull*; 1982;3:15-6.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Bolivian hemorrhagic fever El Beni Department, Bolivia. *MMWR* 1994;43:943-6.
14. United Nations. Statistical yearbook. 39th issue, department for economic and social information and policy analysis, statistical division. New York: United Nations, 1994;201-356.
15. United Nations. Economic and social indicators for latin american countries, including industrialized/ agricultural production. Statistical yearbook for Latin American countries and the Caribbean, 1993. New York: United Nations, 1994:238-41.
16. Peters CJ, Johnson KM. Arenaviridae: lymphocytic choriomeningitis virus, lassa virus, and other arenaviruses. In: Mandell GLK, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases, 4th ed. New York: Churchill Livingstone, Inc., 1995.
17. Enria D, Garcia Franco S, Ambrosio A, Vallejos D, Levis S, Maiztegui J. Current status of the treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Med Microbiol Immunol* 1986;175:173-6.
18. World Health Organization. Vaccination against Argentine hemorrhagic fever. *Wkly Epid Rec* 1993;68: 233-4.
19. Enria DA, Maiztegui JU. Antiviral treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Antiviral Res* 1994;23:23-31.
20. Jahrling PB, Trotter RW, Barrero O, et al. Cross-protection against Machupo virus with Candid 1 Junin virus vaccine III. In: Kurstak E, ed. Proceedings of the second international conference on the impact of viral diseases on the development of Latin American countries and the Caribbean Region. Mar del Plata, Argentina, 1988.
21. Barry M, Russi M, Armstrong L, et al. Brief report: occupational exposure to a new arenavirus; Sabiá virus clinical course, treatment and biosafety management. *N Engl J Med* (in press).
22. Webb PA, Maiztegui JI. Argentine and Bolivian hemorrhagic fevers (South American hemorrhagic fevers). In: Gear JHS, ed. Handbook of viral and rickettsial hemorrhagic fevers. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc., 1988.

Recomendaciones para una Estrategia Regional para la Prevención y Control de Enfermedades Infecciosas Emergentes en las Américas

En Junio 14-15, 1995, una conferencia sobre «Combatiendo las Enfermedades Infecciosas Emergentes: desafíos para las Américas» tuvo lugar en la Organización Panamericana de Salud (PAHO) con sede en Washington, D.C. La reunión fue diseñada para crear una estrategia regional para prevenir y controlar las enfermedades infecciosas emergentes que pueden causar amenazas serias a los pueblos de las Américas.

Los participantes, convocados por la PAHO, incluidos altos funcionarios y expertos en enfermedades infecciosas de esa organización así como también de la Organización Mundial de la Salud, los Centers for Disease Control and Prevention, el Canadian Laboratory Center for Disease Control, el U.S. Department of Defense, y varios países del Caribe y Latinoamericanos.

Este grupo de expertos internacional notó que un número creciente de enfermedades infecciosas nuevas, emergentes, y reemergentes han sido identificadas en tanto naciones desarrolladas y en desarrollo y que estas enfermedades amenazan aumentar en el futuro próximo. Ellos incluyen al virus del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida humana, que surgió en los 1980 y ahora afecta unos 16 millones de personas a través del mundo; y el cólera, que volvió al Hemisferio Occidental por primera vez este siglo en 1991 y ha ocasionado más de 1 millón de casos y 9.000 muertes en las Américas. La PAHO estima que tomará más de una década y encima de \$200 billones para controlar la pandemia actual de esta enfermedad.

Los expertos concluyeron que se necesitan advertencias iniciales y respuestas rápidas a las amenazas de enfermedad infecciosa. El grupo hizo varias recomendaciones importantes a la PAHO y sus estados miembros para mejorar la vigilancia, investigación, y comunicaciones en países en desarrollo. También emitieron recomendaciones más detalladas en las áreas de resistencia antimicrobiana, control de brote, e información y comunicación. Además, un plan de acción está próximo.

El grupo hizo las siguientes recomendaciones para PAHO y sus países miembros:

Recomendaciones Generales

* Desarrollar y actualizar frecuentemente directivas priorizadas de enfermedades específicas para la prevención y control de enfermedades que emergen o reemergen, tanto en la salud

pública como en los niveles individuales. Esto debería incluir medidas de cambio biológico y del comportamiento y requerirán grupos de expertos para cada enfermedad así como expertos de comunicaciones. Las enfermedades de interés incluyen fiebre amarilla, dengue, organismos resistentes a antimicrobianos (malaria, tuberculosis, y enfermedades entéricas), sarampión, polio, cólera y otras enfermedades de origen alimenticio e hídrico, fiebres hemorrágicas virales, plaga, rabia y otras zoonosis, y tripanosomiasis y otras enfermedades mantenidas por vectores.

* Identificar puntos de contacto en el campo para recibir y transmitir información en los países. Estos contactos deberían incluir organizaciones e individuos fuera del gobierno.

* Desarrollar planes para distribuir información oportuna y precisa al público general.

* Desarrollar planes para mejorar y hacer más eficiente la comunicación bidireccional en el informe, control, y modificación de las medidas. Esto puede requerir contratar especialistas de gestión de información para identificar e implementar los medios más eficientes.

* Hacer uso eficiente de la prensa, incluyendo la radio, televisión y periódicos, aviadores, y otros métodos para educar al público y la comunidad médica, con vista hacia la movilización social de comunidades para luchar contra las enfermedades emergentes. Esto requerirá de pericia en comunicaciones y apoyo a los países en planes crecientes de diseminación de información. Los países deberían definir las poblaciones en más grande riesgo y enfocar las medidas de control e información en estas poblaciones.

* Definir enfoques diferentes para educar al público y a la comunidad médica.

* Enfocar los esfuerzos en la acción intersectorial, incluyendo la educación de políticos fuera de la comunidad de salud.

Resistencia Antimicrobiana

El grupo experto recomendó que tanto la PAHO y sus países miembros, donde sea aplicable, hacer lo siguiente:

* Buscar maneras de reducir la disponibilidad de agentes antimicrobianos «sobre mostrador», incluyendo aquellos usados en medicina veterinaria; esto requerirá esfuerzos más allá de la comunidad de salud pública e involucra educación y distribución de información a todos los sectores.

* Intensificar la asistencia a los países en desarrollar políticas racionales de drogas.

* Monitorear la sensibilidad a antibióticos en cada país para permitir el uso óptimo de antibiótico para casos individuales y eliminar los antibióticos con poco valor terapéutico. Emplear mecanismos tal como WHONET y PHLIS para centralizar, analizar, y distribuir datos de sensibilidad antimicrobiana.

* Desarrollar y distribuir recomendaciones específicas para extender la vida útil de las drogas antimicrobianas.

* Frecuentemente revisar la lista de antimicrobianos esenciales con base en datos de sensibilidad.

* Iniciar campañas educativas sobre el costo-eficacia de uso racional de droga en hospitales.

* La colaboración inicial con la industria farmacéutica sobre el uso racional de droga, normalizado etiquetas y advertencias, y estrategias comerciales éticas.

Control de Brote

El grupo experto endosó el papel de liderazgo de PAHO en directivas para desarrollar y disseminar guías para el control y evaluación del brote y recomendó que PAHO

* Hacer recomendaciones oportunas a la respuesta a brotes o amenazas, incluyendo temas relacionadas de consejo de viaje, cuarentena, y comercio.

* Desarrollar políticas y normas que operen planes para la respuesta a brotes en las regiones y a nivel de país. Ayudar a países en desarrollar planes para la respuesta a brotes y asistir en el entrenamiento de equipos.

* Identificar y enumerar individuos y grupos con las experiencia en enfermedades específicas, laboratorios con capacidades diagnósticas de enfermedades específicas, y productos, incluyendo reactivos de diagnóstico, drogas, y vacunas (ambos licenciadas y productos de investigación). Actualizar frecuentemente estas listas.

* Establecer un sistema estándar para la adquisición rápida de vacunas, reactivos, insecticidas y drogas antimicrobianas para la respuesta puntual a brotes.

* Establecer la gestión de información y procedimientos de disseminación para el uso durante brotes, incluyendo la distribución frecuente y precisa de la información a la prensa y el público.

* Conducir evaluaciones formales de respuestas al brote y usar las lecciones aprendidas para mejorar las respuestas a brotes subsiguientes.

Información y Comunicación

Los expertos recomendaron comunicar con altos niveles de funcionarios del estado y enfatizar a aquellos la importancia de una infraestructura básica de salud pública incluyendo mejoramientos en el agua, saneamiento, y condiciones económicas y sociales para prevenir enfermedades. El grupo sugirió disseminar más información sobre implicaciones de desarrollo de salud pública (tal como deforestación, construcción de diques, urbanización, y otras medidas) y buscando interacción efectiva con otros sectores.

Otras Recomendaciones

PAHO debería

* Crear fuerzas de trabajo interagencias para las enfermedades emergentes regionales y a nivel país.

* Informar a los gobiernos regionales, otras organizaciones, y al público sobre la iniciativa de enfermedades emergentes e intentar para un alto nivel de apoyo político.

* Peticionar y destinar recursos específicos para repartir con la iniciativa de enfermedades emergentes, tanto a niveles regionales y de país. Una porción de estos fondos deberían estar inmediatamente disponible cuando los brotes se reconocen.

Para más información sobre estas recomendaciones, la conferencia, o su plano de acción, contactar a PAHO.

Daniel B. Epstein

Office of Information & Public Affairs
Pan American Health Organization
Washington, D.C., USA

Instrucciones a los autores

La **Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes (REIE)** está destinada para la difusión del conocimiento de las enfermedades infecciosas nuevas y emergentes-reemergentes. **REIE** está destinada a profesionales en enfermedades infecciosas. La edición original de **REIE** se publica en Español.

REIE aparece también en versión electrónica (**REIE-VE**), la que puede diferir ligeramente en su diagramación y contenido con la versión impresa de la revista.

Generalidades: Comenzar cada una de las secciones siguientes sobre una página nueva y en este orden: Título, resumen, texto, agradecimientos, referencias, tablas, y figuras con su correspondientes leyendas. En la página de título, agregar información completa sobre cada autor (nombres completos y grado académico alcanzado). Incluir dirección para correspondencia (número de FAX, teléfono y dirección electrónica si posee). Las tablas y las figuras deberán enumerarse separadamente (cada una comenzando con 1) en orden de mención en el texto. Escribir a doble espacio, incluyendo el resumen. Una vez aprobados los originales se deberá enviar el trabajo en diskette. Los nombres científicos de microorganismos se escribirán en letra cursiva.

Actualidad: A la sección actualidad están destinados aquellos trabajos inéditos y de investigación relacionados con las Enfermedades Infecciosas Emergentes siendo bienvenidas las contribuciones de científicos y profesionales de todas las disciplinas. Los artículos no deberán superar las 3.500 palabras y deberán incluir hasta 40 referencias. Deberá contar con las siguientes secciones: Título, Autor/es, Filiación Científica, Resumen en Español (no más de 300 palabras), Resumen en Inglés (no más de 200 palabras) (recomendamos la revisión del mismo por traductores especializados), Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias en no más de 40. Las fotografías y las ilustraciones son optativas en blanco y negro (la publicación de fotografías en color será a cargo del autor). Añadir un resumen breve de antecedentes del autor.

Revisiones: A la sección Revisiones se recibirán las contribuciones de científicos y profesionales de todas las disciplinas y deberán dirigirse a factores que contribuyan a conocer a las enfermedades infecciosas emergentes, incluyendo adaptación y cambio microbiano; comportamiento humano demográfico; tecnología e industria; desarrollo económico; comercio y viaje internacional; y fallas en las medidas de salud pública. Los artículos no deberán superar las 3.500 palabras y deberán incluir hasta 40 referencias. La sección deberá comenzar con una introducción que plantee la relación de los puntos a discutir en el artículo para las enfermedades infecciosas emergentes. Se recomienda el uso de subtítulos adicionales en el cuerpo principal del texto. Las fotografías y las ilustraciones son optativas en blanco y negro (la publicación de fotografías en color será a cargo del autor). Añadir un resumen corto (150 palabras) y un resumen breve de antecedentes del autor. Incluir un resumen (100-200 palabras) en Inglés (recomendamos la revisión del mismo por traductores especializados).

Comunicaciones: Se aceptarán revisiones concisas de enfermedades infecciosas o temas relacionados. Se dará preferencia a revisiones de enfermedades emergentes y nuevas; sin embargo, serán también bienvenidas actualizaciones de otras enfermedades o temas. Deberán contener aproximadamente 3.500 palabras e incluir referencias, en un máximo de 40. La sección deberá comenzar con una introducción que plantee la relación de los puntos a discutir en el artículo de enfermedades infecciosas emergentes. Es recomendable el uso de ilustraciones y subtítulos en el cuerpo principal del texto. Añadir un resumen corto de no más de 150 palabras y un resumen breve de antecedentes del autor. Incluir un resumen (100-200 palabras) en Inglés (recomendamos la revisión del mismo por traductores especializados).

Cartas al Editor: Brindar actualizaciones breves sobre tendencias o investigaciones en enfermedades infecciosas emergentes. Las cartas (hasta 1000 palabras de texto) deberán ser en formato carta y no se dividirán en secciones. Comenzarán con una introducción breve sobre la relación del tema de las enfermedades infecciosas emergentes. Incluir desarrollo de métodos; referencias, en no más de cinco; y figuras o ilustraciones, en no más de dos.

Todos los artículos serán revisados por revisores independientes. El Editor se reserva el derecho de modificar los artículos para su claridad como así también el de modificar el formato a efectos de adaptarlo al estilo de publicación de **REIE**.

Enviar los documentos en copia impresa y una vez aprobados los originales en diskette. Los formatos aceptables para el texto son WordPerfect, MS-Word o PageMaker. Los documentos gráficos deben enviarse en Corel Draw, Harvard Graphics, TIF (TIFF) o GIF (CompuServe) indicando el formato empleado y versión. La fuente preferida para archivos gráficos es Helvética. Convertir los archivos Macintosh a PC en uno de los formatos sugeridos. Enviar las fotografías en copias listas para su reproducción.

Enviar todos los manuscritos y la correspondencia al Editor, **Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes**, CC 741, (1900) La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA, Tel/FAX:54-21-579806 o E-mail stanchi@fcv.medvet.unlp.edu.ar.

Copyright

Todos los autores de manuscritos deben estar de acuerdo en la remisión y son responsables por su contenido, incluyendo la citación correcta y agradecimientos, también deben estar de acuerdo en que el autor para la correspondencia tiene la autoridad para actuar en su nombre en todas las acciones correspondientes a la publicación. **REIE** requiere que el autor firme una transferencia del copyright en acuerdo de todos los autores, sin esto no se publicará el manuscrito. Al remitir el material, los autores garantizan que ese manuscrito u otro con el mismo contenido, no ha sido publicado previamente y no está siendo considerado para publicación en otro medio. Para material previamente publicado (ejemplo tablas, figuras, fotos o texto), el autor es responsable de obtener el permiso (tanto del autor como del editor) para reproducir el original. Se deberán remitir copias del permiso de reproducción.