

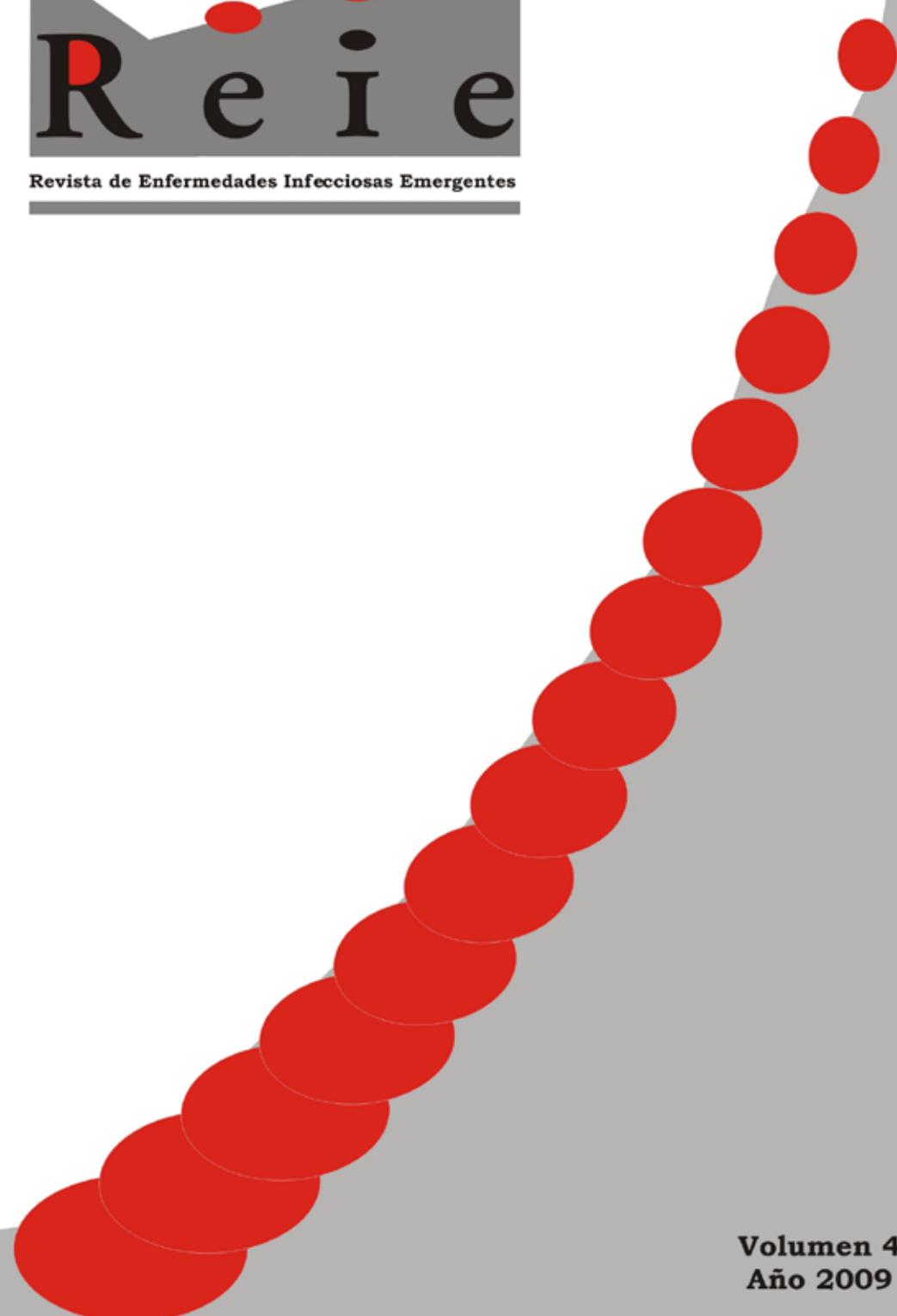


R e i e

Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

ISSN (Versión Electrónica) **0329-8507**
ISSN (Versión impresa) **0329-8493**

Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes Volumen 4 Año 2009



Volumen 4
Año 2009



Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

ISSN (Versión Electrónica) 0329-8507

ISSN (Versión impresa) 0329-8493

Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

Volumen 4 Año 2009

Editor

Nestor Oscar Stanchi

Director Honorario

Roberto A. Cacchione

Comité de Redacción

Oscar R. Linzitto

Daniel O. Arias

Mercedes Gatti

Nilda Radman

Revisión

N.B. Vázquez

M.I. Gamboa

Revista de
Enfermedades Infecciosas Emergentes

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

La **Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes (REIE)** se publica regularmente una vez al año (usualmente en 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.

© Propietario N.O. Stanchi
Dirección: Facultad de Veterinaria
Universidad Nacional de La Plata (1900)
Facultad de Veterinaria
Universidad Católica de Cuyo (San Luis)
San Luis, Argentina.
nestorstanchi@gmail.com

Si Ud. tiene acceso a Internet, puede recuperar los *artículos* de la revista electrónicamente.

<http://www.uccuyosl.edu.ar/paginas/reie.html>

Para más información sobre cómo recibir Enfermedades Infecciosas Emergentes electrónicamente, enviar un e-mail a *nestorstanchi@gmail.com*. 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.

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 o versión impresa, haciendo mención de su ubicación en el primer caso en el <http://www.uccuyosl.edu.ar/paginas/reie.html>

Impreso en Argentina
Printed in Argentina

Se terminó de imprimir el
20 de diciembre de 2009

EFICIENCIA DE LOS SIDEROSPOROS FÚNGICOS COMO LIGANDOS DE METALES PESADOS

M.C. Romero¹, Enso H. Reinoso¹, M.I. Urrutia² y María Moreno Kiernan³

¹ Fac. de Cs. Veterinarias, ² Fac. de Cs. Agrarias y Forestales, ³ Minist. Salud. Prov. B.A. -
Cátedra de Micología Médica e Industrial, calle 60 y 119, s/ n° -
Universidad Nacional de La Plata, 1900 La Plata, ARGENTINA
(reinostonavarrette@yahoo.com.ar ; cmriar@yahoo.com.ar)

INTRODUCCIÓN

En habitats o medios deficientes en hierro las especies fúngicas sintetizan siderosporos (SP) con diversos grupos funcionales, a saber: hidroxamato (HX), rizo-ferrina, ácido rodotorúlico, ferricrisina (Neilands, 1989). Los siderosporos son compuestos de bajo peso molecular, específicos para capturar Fe³⁺, pero se observó que podían adsorber otros elementos como cadmio, cromo, torio y/o uranio (Der Helm & Winkelmann, 1994; Baker & Dickman, 1995). Estos metales pesados (HM) son liberados al medioambiente por numerosas industrias, por lo que las propiedades de los SP o sus análogos podrían emplearse en estrategias de bioremediación con el fin de afectar la movilidad de los metales en los desechos, suelos y aguas. Los objetivos del presente estudio fueron evaluar el potencial de los SP fúngicos con hidroxamato para secuestrar los metales pesados (HM) cromo y cadmio, optimizar una técnica sencilla de ponderación para las especies fúngicas como agentes detoxificantes y/o indicadores de polución.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento fúngico y cultivos para producción de siderosporos.

Se tomaron muestras compuestas de sedimentos de áreas industriales en La Plata, Argentina. Tres diluciones se sembraron, por triplicado, en medio de Vogel modificado con 75 ml de la solución de antibióticos (streptomicina 5,0 g, cloranfenicol 2,5 g, amoxicilina 5,0 g, agua destilada 1,0 l), y 200 µl CrO₄K₂ (2 mM), pH 5.0. Las placas se inocularon con las diluciones seleccionadas e incubaron a 28 °C, por 21 días. Desarrollaron 14 cepas fúngicas pero sólo aquellas que crecieron en 3 repiques más en este medio selectivo, se emplearon para los ensayos futuros. Las especies fúngicas se identificaron por macro, micromorfología y formas reproductivas bajo diversas condiciones (UV, con o sin luz, 20, 28 y 35 °C, pH 5-7).

La inducción de SP se logró mediante cultivos en tubos de 25 ml con 5 ml medio de Vogel sin sulfato de amonio ferroso y con 30 mg / l de fosfato di-hidrogenado de potasio, pH 5.0, e inoculadas con una suspensión de micelio estandarizada por espectrofotometría. Una vez sellados los tubos fueron incubados a 28 °C por 14 días, en estufa y oscuridad. Luego se centrifugaron, y el sobrenadante se filtró por filtros de 0,2 µm.

Ensayos de complejación

El test cromo-azurol (CAS, Schwyn & Neilands, 1987) fue implementado para evaluar la fijación del CrO_4^{2-} a los SP fúngicos, en este test se forma un complejo coloreado que compuesto por CAS, cation-hexadecilt trimetilamonio (HDTMA) y Fe^{3+} . Se inoculan las placas con 200 μl del sobrenadante de 3 cepas seleccionadas para este ensayo, introduciendo como factor de selección 200 μl CrO_4K_2 . Cuando el Fe^{3+} se fija a otro ligando, el color del complejo cambia de azul a naranja-rosado. Dos ensayos se realizaron simultáneamente, un juego de placas con CAS- Fe^{3+} . HDTMA-agar, y el otro con CAS- CrO_4^{2-} . HDTMA-agar. Con el fin de evaluar la relación entre los ligandos y el cambio de color, se agregó 0.1-1.0 mM desferrioxamina (DFO). La decoloración se analizó mediante el programa UTHSCSA, disponible en <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>; éste convierte las imágenes de las cajas de Petri a escala de grises y en 2 perfiles, horizontal y vertical, midiendo a través del halo. El gris más fuerte corresponde al naranja-rosado, el tono más claro al azul. El tono de gris de cada punto en función de la posición de las coordenadas, se obtiene con un programa Microsoft Excel (en igual página web).

RESULTADOS

Gliocladium viride, *Gliocladium penicillodes*, micelio estéril (ME-I), *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Geotrichum* spp. y un segundo micelio estéril (ME-II) desarrollaron en el medio selectivo. *G. viride*, *G. penicillodes* y ME-I se seleccionaron para los ensayos de adsorción de HM, por su crecimiento significativo y persistente. Se destaca que en las experiencias, se introdujo como factor de selección la presencia de cromo, para reducir el espectro de especies capaces de desarrollar pero sin capacidad posterior para la fijación de metales pesados (HM).

El cultivo de las especies aisladas en medios deficientes en Fe^{3+} nos permitió

diferenciar las especies productoras de SP-HM; siendo *G. viride*, *G. penicillodes* y ME-I las cepas de producción más significativas, con 5,0, 4,3 y 4,0 μg SP-HM / ml medio, respectivamente (Fig. 1). La intensidad del color equivale a los niveles de síntesis de SP-HX (μg SP-HM / ml medio)

Fusarium spp. y *Cladosporium* spp. produjeron valores intermedios de (2,5 y 2,0 μg SP-HM / ml); mientras en los ensayos de *Geotrichum* spp. y ME-II se obtuvieron valores casi nulos, es decir que ante la deficiencia de Fe^{3+} no sintetizan SP-HM, habiendo desarrollado otro mecanismo para la captura de Fe^{3+} .

Para confirmar la valoración de SP-HM y quelación *in-vitro* se aplicó el test cromo-azurol (CAS), que transforma los colores de los complejos mencionados en tonos de grises. Para cada punto del halo se define $G_{inc} = G_{x,y} - G_{blue}$, donde $G_{x,y}$: tono de gris en el punto (x,y) a lo largo de las coordenadas, G_{blue} : tono de gris en la región azul, y G_{inc} valor del tono para cada punto multiplicado por $2nr$, donde r fue la distancia desde el centro del halo al punto en cuestión. La decoloración o variación del color (D) se obtuvo mediante la relación $D = 2nr \times G_{inc}$, o sea los datos de cada punto naranja-rosado (x_1, y_1) al punto de coloración azul (x_2, y_2). El valor D del punto de reacción se fija para cada extremo de los ejes de coordenadas, dando un total de 4 D para situarlo espacialmente dentro del halo. La variación de color se mide en unidades arbitrarias, correspondiendo 90 000 D = 50 μM DFO.

En el ensayo de CAS en presencia de Cd (Fig. 2) se observó que *G. viride* fijó concentraciones fluctuantes de Cd, 40-50 μM DFO, para variaciones de Cd de 100 a 500 ppm. *G. penicillodes* varió de 35-25 y 17 μM DFO para 100-400 y 500 ppm Cd, respectivamente. El ME-I tuvo una significativa disminución en función de los niveles crecientes de Cd, con solo 2,5 μM DFO para la concentración superior.

En los ensayos CAS las 3 cepas fúngicas ensayadas incrementaron con el nivel de cromo, es decir de 100 a 500

Fig. 1: Produccion de siderosporos (ug SP-HM / ml medio) en función de la intensidad del color para *G. viride*, *G. penicilloides* y ME-I.

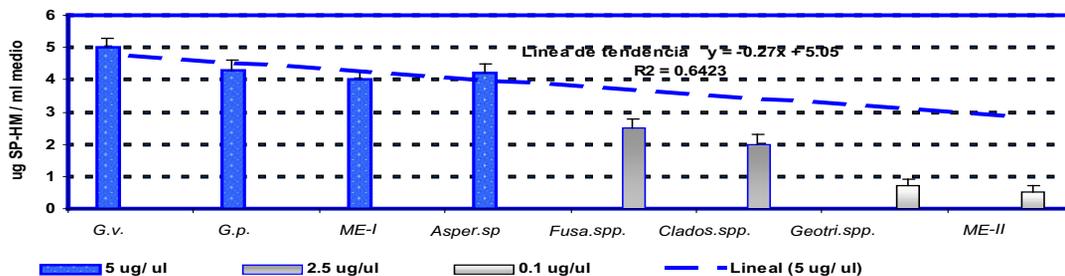


Fig. 2: Resultados del test de CAS (uM DFC) en presencia de 100 a 500 ppm Cd.

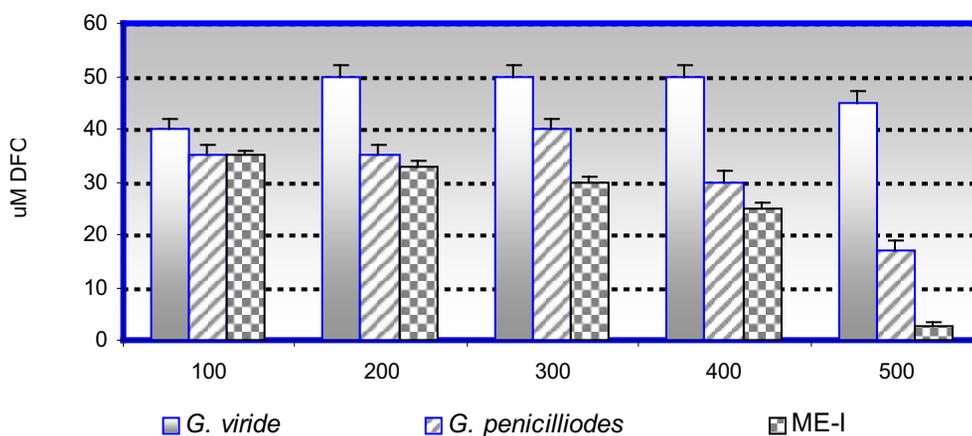
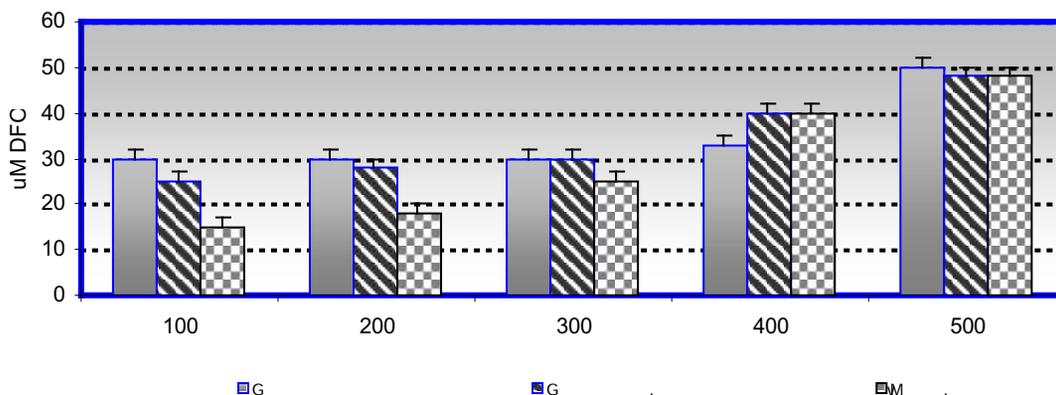


Fig. 3: Resultados del test de CAS (uM DFC) en presencia de 100 a 500 ppm Cr.



ppm Cr³⁺, con valores cercanos a los 50 µM DFO (Fig. 3). Las 2 especies de *Gliocladium* tuvieron una respuesta similar; el ME-I fijó menor concentración de cromo en presencia de 100 ppm Cr, y luego incrementó su quelación ante mayores niveles del HM, con un valor similar a las otras cepas frente a 500 ppm Cr.

En conclusion, aunque los siderosporos fúngicos han sido estudiados por diversos autores, en especial por Neilands (1952) en *Ustilago sphaerogena* y en *Saccharomyces cerevisiae* (Neilands, 1989), hasta el momento se desconoce como actúa el metal. Si el mecanismo es similar al encontrado en *Escherichia coli*, podría comportarse como co-represor o en forma divalente, es decir una proteína divalente fijadora de iones de metales pesados (Neilands, 1984).

Por otro lado el test Cas-azurool no ha sido aplicado ni estandarizada para valorar la fijación de otros metales pesados. Por lo que la hipótesis es novedosa, sugiriendo la aplicación y extensión de la técnica a otras especies fúngicas; particularmente a especies que puedan haber desarrollado resistencia a HM, como los de ambientes contaminados (Emery & Neilands, 1962). Esta metodología podría emplearse en análisis de suelos o fluidos poluídos, obteniéndose a través de ella la capacidad de las áreas naturales o modificadas por actividad antrópica de secuestrar metales pesados.

BIBLIOGRAFIA

1. Neilands J.B. 1952. A crystalline organo-iron pigment from a smut fungus, *Ustilago sphaerogena*. *J. Am. Chem. Soc.* 74: 4846-4847
2. Neilands J.B. 1989. Siderophore systems of bacteria and fungi. In: *Metal ions and bacteria*. Bedveridge T.J. & Doyle R.J. (eds). John Wiley & Sons, NY. pp: 141-163.
3. Neilands J.B. 1984. Methodology of siderophores. *Structures & Bonding*, 58: 1-24.
4. Emery, T.F. & Neilands J.B. 1962. Further observations concerning the periodic acid oxidation of hydroxylamine derivatives. *J. Org. Chem.* 27: 1075-1076.
5. Schwyn B. & Neilands J.B. 1987. Universal chemical assays for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* 160: 47-56.

6. Der Helm van D. & Winkelmann G. 1994. Hydroxamates and polycarboxylates as iron transport agents (siderophores) in fungi. In: *Metal ions in Fungi*. Neilands J.B. & Winge D.R. (eds). Mycology series. Marcel Dekker, Inc., NY . pp: 39-48.

7. Baker R. & Dickman M.B. Biological control with Fungi. In: *Soil microbial ecology, applications in agricultural and environmental management*. Metting F.B. (ed). Marcel Dekker, Inc., NY . pp: 275-305.

INTRODUCCIÓN AL PROYECTO DE DESARROLLO PROFESIONAL CONTINUO PARA LOS VETERINARIOS DEL SUR (PROVETSUR)

Kuniaki Suzuki PhD

Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) y
Universidad Nacional de La Plata (UNLP)

PROVETSUR es un proyecto que se inició en agosto de 2005 con una duración estimada de 5 años. Es un proyecto de cooperación regional que tiene como destinatarios a 4 países de la parte Sur de Sudamérica (Argentina, Bolivia, Paraguay y Uruguay)^{*1}. Apuntamos principalmente al establecimiento de un marco necesario para un sistema regional de coordinación entre los veterinarios de la región para mantener y asegurar la confiabilidad en los veterinarios por parte de la sociedad y mejorar las condiciones para impulsar una actividad apropiada de estos profesionales. Para ello, estamos expandiendo el resultado exitoso de la cooperación realizada a partir de 1980 hacia la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata en técnicas de diagnóstico de enfermedades en animales domésticos hacia los 3 países vecinos para: (1) Impulsar la formación continua de los veterinarios, (2) Fortalecer el intercambio entre los veterinarios y (3) Establecer una red de intercambio de información epidemiológica y de diagnóstico. Estamos implementando una administración eficiente limitando los aportes desde Japón solamente con expertos y equipamientos; buscando una utilización eficaz de los recursos de asistencia existentes. La Universidad Nacional de La Plata, cumple el rol de coordinador general del proyecto como Centro de formación de los veterinarios de la región fortaleciendo su estructura de coordinación con los países vecinos y impulsando la iniciativa de las acciones. Este proyecto, tiende a responder a las diversas necesidades que tienen cada uno de los países involucrados. Por ejemplo, en Bolivia se ha seleccionado a la rabia que es una de las enfermedades más importantes a nivel de la salud pública y estamos en la adopción de medidas a través de estudios epidemiológicos y el mejoramiento de las técnicas de diagnóstico. Recientemente, el artículo del resultado de la investigación realizada en este tema, ha sido aceptada por la revista internacional sobre biomedicina y ciencias de la salud como es *Acta Tropica*^{*2}. En Paraguay, se ha focalizado en la enfermedad Gumboro en aves. Al fin del proyecto, se espera compartir la información sobre los conocimientos y experiencias logradas con las actividades en cada uno de los países. Finalmente, quisiera presentar una actividad realizada en Argentina en febrero de este año (2007). En las instalaciones de la Asociación Japonesa de La Plata de la Colonia Urquiza ubicada en los alrededores de la ciudad de La Plata, he brindado sobre Hantavirus antes unas 100 personas entre socios de la asociación y funcionarios municipales encargados del Hantavirus. Hace unos años atrás, en esta Colonia apareció un paciente con neumonía y se pensó que estaba contagiado por Hantavirus y dado que en enero de este año, apareció otra nueva víctima, la Asociación me ha solicitado esta charla con el fin de incrementar los conocimientos de la población y el grado de peligrosidad de esta enfermedad. La charla duró unas 2 horas y he realizado la explicación sobre las particularidades de esta enfermedad y las medidas de prevención que son posibles de ejecutar en cada hogar. Luego se realizó un activo

ciclo de preguntas y respuestas. El Dr. N.G. Amato, encargado municipal de este tema, expresó su satisfacción por la versatilidad de la presentación y que la misma ha sido muy significativa para aumentar los conocimientos de la población. También expresó que la charla ha sido muy útil para reforzar las medidas de prevención que debe impulsar el municipio.

*1 Participantes: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (Argentina); Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno (Bolivia); Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción (Paraguay); Facultad de Veterinaria, Universidad de República (Uruguay).

*2 Suzuki, K. et al. (2007): Descriptive spatial and spatio-temporal analysis of the 2000–2005 canine rabies endemic in Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. *Acta Tropica*, 103, 157-162 [en inglés].

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS AMBIENTALES EN AGUA DE RED. ESTUDIO PRELIMINAR

Yesica Huerta, Alejandra Oriani y Mónica Baldini

Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. San Juan 670
Bahía Blanca. yesicahuerta@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

El grupo de las micobacterias es monogénico, todas corresponden al género *Mycobacterium*, y muchas de las especies son agentes etiológicos de enfermedades humanas muy importantes como la tuberculosis y la lepra (miembros del complejo *M. tuberculosis* y *M. leprae*) que, según datos de la OMS, constituyen en la actualidad uno de los problemas sanitarios de mayor gravedad a nivel mundial, a pesar de los esfuerzos realizados para su control. Además, numerosas especies de micobacterias ambientales (MA), también llamadas “micobacterias no tuberculosas” o “micobacterias atípicas”, han tomado mayor protagonismo en los últimos tiempos como patógenos emergentes, por su implicancia creciente en infecciones oportunistas del hombre y los animales, principalmente con el aumento de las infecciones por HIV (Murray *et al.*, 2003). Sus necesidades nutritivas sencillas, su pared celular muy gruesa y de alto contenido lipídico, su capacidad de formar biofilms y, en algunos casos de vivir como endosimbiontes de ciertos protozoos; son características que les confieren propiedades que favorecen su supervivencia en varios biotopos naturales por períodos prolongados de tiempo. También está demostrado que muchas especies sobreviven a los procesos de clorinación aplicados a las aguas de bebida (Barreira y Sequeira, 2003), lo cual hace del agua de red uno de sus reservorios principales, a través del cual pueden vehiculizarse hasta los humanos.

Los objetivos de este trabajo son: conocer la situación del agua de red de la ciudad de Bahía Blanca en lo que a MA se refiere, e identificar fenotípicamente las cepas aisladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron 24 muestras de agua potable, a partir de 4 sitios de la ciudad seleccionados de acuerdo a su distancia a la planta potabilizadora. Se utilizaron botellas de vidrio estériles con 0,1 mg/litro de Tiosulfato de Na⁺, a fin de neutralizar el cloro. Se buscaron MA y bacterias coliformes, aplicando las técnicas de Leite (Fujimora Leite *et al.*, 1989) y NMP con caldo McConkey respectivamente. Se sembraron seis tubos por muestra en medio Löwestein-Jensen y se incubaron hasta 60 días a 45, 37 y 25° C en presencia y ausencia de luz. Se verificó diariamente la aparición de colonias a fin de detectar MA de crecimiento rápido y posibles contaminantes. Se analizó la morfología macro y microscópica de las colonias, y a las compatibles se les realizó la coloración de Ziehl-Neelsen (ZN). Inicialmente se aplicó la clasificación de Runyon (1959) de acuerdo al tipo de cromogenicidad de las colonias y a la velocidad de crecimiento (Diagrama 1). Posteriormente, se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: Niacina, NO₃, NaCl, Ureasa, Tween 80, utilización como sustratos de Inositol, Manitol y Citrato, Catalasa cuali- y semicuantitativa, Pirazinamidasas y reducción de Telurito en 3 y 9 días (Holt *et al.*, 1994; Bernardelli, 2007).

RESULTADOS

Todas las muestras estudiadas cumplieron con lo establecido por el CAA para aguas de bebida, sin embargo en el 70% de ellas (n:17) se encontraron MA.

De las cepas identificadas bioquímicamente hasta el momento (n:15), 4 correspondieron a *Mycobacterium scrofulaceum*, 3 a *M. vaccae*, 1 *M. flavescens*, y 1 *M. goodnae*. Seis, de crecimiento rápido, continúan aún en estudio.

Con los datos con que se cuenta, no se encontraron diferencias entre los sitios de muestreo ($\alpha < 0,05$).

DISCUSIÓN

Si bien la identificación de MA mediante pruebas bioquímicas tiene sus desventajas, como el tiempo necesario para la obtención de resultados, no es un método obsoleto ya que complementa los datos obtenidos por biología molecular, es sencillo y sobre todo económico.

La fenotipificación exige experiencia, el conocimiento del fundamento de las pruebas, y la realización de un número importante de ellas para obtener resultados coherentes.

La calidad bacteriológica del agua de bebida se determina rutinariamente por búsqueda y cuantificación de bacterias indicadoras de contaminación fecal, queda claro que éstas no predicen la presencia de MA. Por tanto, sería conveniente un estudio periódico de los suministros de agua, principalmente en lugares que concentran a la población de riesgo (unidades de hemodiálisis, cuidados intensivos, tratamiento de pacientes inmunocomprometidos, etc.).

En los próximos años se prevé una incidencia creciente de las interacciones entre los seres humanos y las MA, lo cual probablemente se refleje en el aumento de casos de micobacteriosis. Esto puede deberse: 1) a que la desinfección del agua de bebida con cloro selecciona las MA más resistentes y reduce la competencia, al eliminar la microbiota acompañante más sensible y 2) al aumento de la población con factores predisponentes, como el SIDA, la edad y los tratamientos inmunosupresores (Primm et al., 2004).

Por lo antedicho, se considera que sería de interés conocer la ecología fisiológica de las MA para develar los efectos que éstas tienen en los seres humanos y que permita intervenir cuando sea necesario. Los esfuerzos entonces, deben centrarse en acciones que permitan conocer y controlar el número de MA en los hábitats donde los seres humanos y los animales puedan estar expuestos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barreira L. y Sequeira M. (2003). Manual para el diagnóstico Bacteriológico de Tuberculosis. Parte II: Cultivo, Normas y Guía Técnica. ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Argentina.
2. Bernardelli A. (2007). Clasificación fenotípica de las Micobacterias. Manual de Procedimientos. SENASA. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina. <http://www.senasa.gov.ar>
3. Fujimora Leite C., Ferracini R. Jr., Falcao D., David H. and Lévy Prébault V. (1989). Prevalência e distribuição de micobactérias nas águas de algumas regiões do Estado de São Paulo-Brasil. Rev. Microbiol. São Paulo 20:432-441.
4. Holt J., Krieg N., Sneath P., Staley J. and Williams S. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology: 597-603.-9th ed. INTERNATIONAL EDITION. Maryland, USA.

Diagrama 1. Clasificación inicial de MA de acuerdo a la velocidad de crecimiento y producción de pigmento.



5. Murray P., Baron E., Jorgensen J., Pfaller M. and Tenover F. C. (2003). Manual of Clinical Microbiology. -8th ed. Vol. 1. ASM Press. Washington DC.
6. Primm T., Lucero C. and Falkinham III Jr. (2004). Health impacts of environmental mycobacteria. Clinical Microbiology reviews. 17: 98-106.
7. Runyon EH. (1959). Anonymus mycobacteria in pulmonary disease. The Medical Clinics of North America. 43:273-290.

ASOCIACIONES INFECCIOSAS INVOLUCRADAS EN PROCESOS MÓRBIDOS

Sosa, Vanesa M.E.¹; Thea, Ana E.¹; Vedoya, María C.¹; Medvedeff, Martha G.¹; Chade, Miriam E.¹; Mereles, Beda E.¹; Velázquez, Ernesto¹.

¹Laboratorio de Micología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.
Universidad Nacional de Misiones. (UNaM).
Av. Mariano Moreno 1375. Posadas (3300). Misiones. Argentina.
Te Fax. 54 3752 435118. E-mail: micología@fceqyn.unam.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La epidemiología de las enfermedades infecciosas ha cambiado en los últimos años, han aumentado su incidencia, la etiología de estas infecciones se ha modificado, han aparecido microorganismos más agresivos, constituyen causa de morbimortalidad y más aún cuando se encuentran asociadas a otros procesos infecciosos graves¹⁻².

En la actualidad, existe mayor número de individuos con riesgo de adquirir micosis profundas que en décadas previas. Entre ellos se destacan los pacientes inmunodeprimidos, enfermos postquirúrgicos o con neoplasias, los sometidos a múltiples maniobras terapéuticas, a terapias antibacterianas de amplio espectro o a procedimientos diagnósticos invasivos, los desnutridos o con enfermedades metabólicas de base, entre otras³⁻⁴⁻⁵.

Dentro de estos procesos infecciosos, las micosis no se caracterizan por ser las primeras consideradas en la sospecha clínica. El hallazgo de un agente etiológico como única causa de enfermedad, no descarta la posibilidad de la coexistencia de otro/s agente/s infeccioso/s involucrados en el proceso mórbido.

El diagnóstico de las micosis no es posible sin las investigaciones de laboratorio. Los antecedentes del enfermo, la ocupación, el medio en que vive, el examen somático y radiológico, permiten a veces orientar a un diagnóstico. De todas maneras sólo sería un diagnóstico clínico-radiológico de presunción; que debería ser confirmado por el laboratorio⁶. El diagnóstico microbiológico es un paso esencial en el establecimiento de la etiología de las enfermedades infecciosas, y aunque su característica fundamental es la identificación del agente etiológico, se cuenta con métodos alternativos al cultivo como las técnicas serológicas que permiten la detección tanto de antígenos fúngicos como la respuesta de anticuerpos que se produce durante el desarrollo de la micosis⁷.

Desde la cátedra de Micología de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (UNaM), se planteó la necesidad de un estudio retrospectivo para dar a conocer las asociaciones infecciosas con micosis sistémicas encontradas en los últimos ocho años de trabajo asistencial brindado a distintos centros de salud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población objeto de estudio:

Se efectuó una revisión retrospectiva de datos epidemiológicos de 1646 pacientes, de 1 a 87 años de edad, internados y ambulatorios, de ambos sexos, cuyas muestras fueron estudiadas en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales (UNaM).

Datos epidemiológicos recogidos del cuestionario diseñado previamente:

Edad, sexo, lugar de residencia (actual y pasada), trayectoria ocupacional, factores de riesgo y enfermedades de base, infección virológica, parasitológica y bacteriológicamente probada, tratamientos antimicrobianos previos, procedimientos quirúrgicos previos o procedimientos diagnósticos invasivos o alguna circunstancia relevante (accidentes, heridas, quemaduras, etc).

Período de estudio:

Febrero 2000 - 2009

Muestras procesadas:

Sangre, sueros, materiales de biopsia, esputos seriados, escarificaciones mucocutáneas, lavados bronqueoalveolares, líquidos cefalorraquídeos, líquidos de punción pleural y otros líquidos de punción.

Los procedimientos empleados para el diagnóstico de las infecciones micóticas, fueron los utilizados en el diagnóstico micológico clásico que incluye, la observación microscópica directa en búsqueda de elementos fúngicos y los cultivos en agar glucosado Sabouraud, agar selectivo para hongos patógenos, hongos y levaduras e infusión cerebro corazón a 25°C y 37°C⁸⁻⁹⁻¹⁰⁻¹¹.

Se realizaron estudios serológicos para la detección de anticuerpos como la inmunodifusión doble (IDD) y

contrainmuno-electroforesis (CIEF) en gel de agarosa, con reactivos de inmunodiagnóstico de *Paracoccidiodes brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* y *A. niger*. Para la detección de antígeno polisacárido capsular de *Cryptococcus neoformans* se utilizó la aglutinación con partículas de latex⁸⁻⁹⁻¹⁰⁻¹¹.

RESULTADOS

Sobre el total de 1646 pacientes, se diagnosticaron 8,6% (141/1646) de micosis sistémicas (Gráfico 1), siendo la frecuencia de asociación de micosis con otras afecciones infecciosas de 36,9% (52/141), según se aprecia en el gráfico 2. Las diferentes asociaciones y su frecuencia se detallan en el Gráfico 3.

Ante el hallazgo de dos y tres agentes infecciosos en un mismo paciente, se considera ineludible el abordaje clínico-infectológico, epidemiológico y microbiológico del mismo, teniendo en cuenta la evolución mórbida que ellos ocasionan, convirtiéndose en un importante problema de salud pública del que no se disponen datos epidemiológicos. El diagnóstico precoz y la aparición de nuevas formulaciones de antifúngicos concretan resultados promisorios donde los hongos se encuentran involucrados en procesos mórbidos.

Gráfico 1: Frecuencia de Micosis diagnosticadas (n=1646)

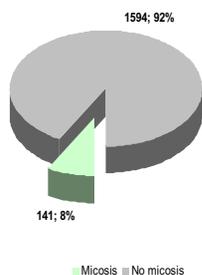
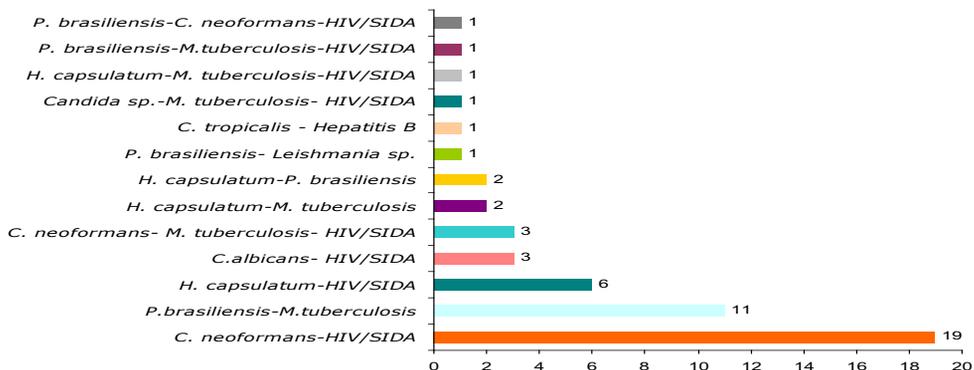


Gráfico 2: Frecuencia de asociaciones de Micosis con otras afecciones infecciosas (n=141)



Gráfico 3: Frecuencia de Asociaciones Infecciosas



BIBLIOGRAFÍA

1. Pontón J. Rev. Iberoam. Micol (1993); S8-S12.
2. Trick WE, Jarvis WR. Rev. Iberoam. Micol (1998); 15: 2-6.
3. Cantón y cols. Rev. Iberoam. Micol (2001); 18: 51-55.
4. Sandven P. Rev. Iberoam. Micol (2000); 17: 73-81.
5. Quindós G. Rev. Iberoam. Micol (2002); 19: 1-4.
6. Vedoya MC y cols. (2006). Disponible en: www.reviberoammicol.com/CNM2006/posters/D5.rtf.
7. Pontón J. Rev. Iberoam. Micol (2002); 19: 25-29.
8. Lopez Martinez R, Mendez Tovar LJ, Hernandez Hernandez F, Castañón Olivares R. Micología Médica, Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio. 1° ed. 1995, México, Ed. Trillas.
9. Koneman EW, Roberts GD. Micología. Práctica de laboratorio. 3° ed. 1987, Argentina, Ed. Médica Panamericana.
10. Negroni R. Lecciones de Clínica Micológica. 1° ed. 1997, Argentina, Ed. La Agenda.
11. Negroni P, Negroni R. Micosis Cutáneas y Visce- rales. 9° ed. 1989, Argentina, Ed. López Libreros.

BIOFILMS SOBRE MATERIALES ESTRUCTURALES. EFECTO EN EL BIODETERIORO Y SU RELACION CON EL AMBIENTE

Patricia S. Guiamet^{1,2}, Juan Martín Fontana^{1,3}, Sandra G. Gómez de Saravia.^{1,3}

¹Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata- CONICET. C.C. 16, Suc.4 (1900), La Plata. Tel: 54-221-4257430, Fax: 54-221-4254642. pguiamet@nifta.unlp.edu.ar ²CONICET. ³CICBA.

INTRODUCCIÓN

El biodeterioro se puede definir como cualquier cambio indeseable en las propiedades de un material, causado por la actividad vital de los organismos. Los factores que propician el biodeterioro son: humedad, temperatura, nutrientes, pH, oxígeno y luz. Los organismos que intervienen en los procesos de biodeterioro son bacterias, hongos, algas, líquenes, plantas vasculares, insectos, aves, roedores y murciélagos (Hueck, 1965). Los métodos empleados para prevenir el biodeterioro deben considerar la inhibición del crecimiento o de la actividad metabólica de los microorganismos y la modificación de las características del ambiente donde se desarrolla el proceso de deterioro. Los diferentes métodos tienden a eliminar del sustrato todos los elementos adheridos, debiéndose respetar en estas operaciones el aspecto original. Actualmente, existe una marcada tendencia la utilización de productos “amigables con el ambiente”, como extractos obtenidos de plantas, para la prevención del biodeterioro (Guiamet et al., 2006; Gómez de Saravia et al., 2008). El objetivo de este estudio fue analizar el grado de biodeterioro de tres tipos de materiales estructurales (material cementicio, mármol y ladrillo) por la formación de biofilms y su relación con el ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales muestreados fueron: material cementiceo y mármol (cementerio de La Plata) y ladrillo (catedral de La Plata). La toma de muestras se realizó en forma aséptica utilizando técnicas no destructivas (Videla et al., 2000). Todas las muestras fueron tomadas por raspado con bisturí de una superficie de 1 cm² y se colocaron en recipientes estériles. En algunas ocasiones se realizaron muestreos microbiológicos “*in situ*” con la utilización de lámino-cultivos obteniendo una evaluación cuantitativa de la carga microbiana por superficie. En el caso de la catedral de La Plata se tomaron 3 muestras en diferentes sitios. En el cementerio de La Plata se tomaron 6 muestras de diferentes monumentos. Se realizaron observaciones microscópicas en el microscopio óptico y microscopio electrónico de barrido (MEB) y microscopía de fuerza atómica (AFM). Para caracterizar los productos derivados del deterioro del material estructural se utilizaron estudios de análisis de superficie por dispersión de rayos x (EDX).

ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

Se sembraron diluciones adecuadas de cada muestra proveniente de los diferentes materiales en medios de cultivos diferenciales, selectivos, etc. (Guiamet, 2001) para realizar el recuento en placas de las colonias (Madigan et al 2004): recuentos de grupos fisiológicos de bacterias amilolíticas y proteolíticas. Se evaluaron sus porcentajes respecto a las bacterias aeróbicas totales. Se realizaron recuentos de bacterias

con actividad acidificante, BRS, sulfito reductores y hongos y levaduras.

Tipificación de microorganismos

Se tipificaron a través de API 20NE kits a 37 °C (API System, BioMérieux, S.A., Marcy l'Etoile, FR) y a través de técnicas moleculares.

Identificación de algas

La revisión de cada una de las muestras incluyó la descripción morfológica utilizando un microscopio óptico. La información obtenida se analizó consultando claves de sistemática y bibliografía especializada (Bourrelly, 1985).

RESULTADOS

Utilizando lamino cultivos, en los diferentes monumentos del cementerio de La Plata los recuentos de bacterias aeróbicas totales variaron de acuerdo al monumento entre valores de 17 UFC/cm² a 140 UFC/cm² y los recuentos de hongos y levaduras variaron entre valores de 2.3 UFC/cm² a 6 UFC/cm². La presencia de bacterias con actividad acidificante contribuyen a los procesos de acidólisis del material. En la Tabla 1 se observan algunos de los microorganismos aislados de las muestras tomadas en la catedral de La Plata y en la tabla II se observan los microorganismos identificados por técnicas moleculares en el cementerio de La Plata y catedral de La Plata (secuenciación del ADN, 16S). En la catedral de La Plata, se observó una gran diferencia entre los biofilms estudiados por la diferente composición de taxones algales; los biofilms verdes con una capa

externa de musgos del genero *Hennedilla sp* (Familia Pottiaceae), fueron los que presentaron más desarrollo y en ellos se encontró una gran cantidad de Chlorophytas Chlorococcales, cianobacterias Chroococcales (*Chlorococcum sp*, *Chlorella sp* y *Synechocystis sp.*). En los biofilms negros la microflora algal predominante estuvo representada por algas filamentosas (*Klebsormidium cf. flaccidium*) y cianobacterias filamentosas (*Oscillatoria sp.* y *Pseudoanabaena sp.*), aquí, las formas cocales estuvieron presentes pero en menor cantidad. El tercer tipo de biofilm estuvo asociado a una gran cantidad de material fangoso proveniente de una canaleta, presentó formas filamentosas del orden Trentepohliales (*Trentepohlia sp.* y *Printzina sp.*) fijadas a ese material junto con unas pocas cianobacterias coloniales que también se hallaron unidas a material fangoso. Fue notoria la gran cantidad y diversidad de diatomeas presentes en todos los biofilms. Todas las diatomeas encontradas pertenecen al orden Pennales con rafe, estructura que está asociada a la síntesis de mucopolisacáridos para la sujeción y movimiento y es material que contribuye a la formación de biofilms por su capacidad de atrapar material en suspensión y en consecuencia deteriorar el sustrato. Se identificaron también en estos muestreos, plantas vasculares de las especies *Pteris longifolia*, *Adiantum raddianum* y *Cymbalaria muralis*.

DISCUSIÓN

- Estos estudios permitieron determinar la presencia de una flora microbiana con actividad enzimática de acuerdo a las características del sustrato investiga-

Tabla I. Bacterias y hongos aislados de la catedral de La Plata

Microorganismos tipificados	Catedral
Bacterias	<i>Burkholderia cepacea</i> <i>Aeromonas sp.</i>
Hongos	<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem

Tabla II. Se presentan los microorganismos secuenciados, con los porcentajes de homología de los más próximos depositados en el NCBI y su número de acceso correspondiente.

Microorganismo	Longitud secuencia (pb)	Microorganismo más próximo (Nº acceso NCBI)	Alineamiento, % Homología
Cementerio-02	352	<i>Pseudomonas putida</i> (EU196391)	345/352, 98
Cementerio-06	277	<i>Pseudomonas</i> sp (AY269246)	268/279, 96
Cementerio-L	357	<i>Bacillus cereus</i> (EF152358)	345/356, 96
Catedral-X	340	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (AM779068)	338/340, 99
Catedral-C1	423	<i>Leclercia adecarboxylata</i> (AB273740)	422/423, 99
Catedral-C2	450	<i>Bacillus thuringiensis</i> (EU240371)	450/450, 100

do, la que fue registrada en los diferentes medios de cultivo utilizados. La presencia de *Clostridium* sp estaría propiciando la formación de nichos anaeróbicos para el desarrollo de BRS.

- Los biofilms de cianobacterias y algas participan en los procesos de biodeterioro sirviendo de soporte a la población bacteriana y a través de la degradación directa del sustrato.

- La presencia de bacterias, cianobacterias y hongos contribuyó marcadamente en los mecanismos de biodeterioro involucrando la producción de metabolitos ácidos, que pueden potenciar los efectos agresivos de las condiciones climáticas y juegan un rol muy importante en el mecanismo de biodeterioro conocido como mecanismo biogeoquímico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la UNLP (Proyectos 11N 458 y 11X 506, a la CIC (Subsidio Res. 578/08), al Departamento de Ingeniería y Ciencia de los Materiales (Proyecto Semilla) Universidad Politécnica de Madrid por los estudios moleculares.

BIBLIOGRAFÍA

- Bourrelly, P. 1985. Les Algues d'eau Douce. Societe Nouvelle Des Editions. Paris, pp. 1-572.
- Gómez de Saravia S., de la Paz Naranjo, J., Guiamet, P., Arenas, P., Borrego, S. 2008. BACPMA 7: 25-29,
- Guiamet P. S. 2001. Efectos de los contaminantes fúngicos y bacterianos en el biodeterioro de materiales estructurales en jornadas científicas tecnológicas sobre prevención y protección del patrimonio cultural Iberoamericano de los efectos del biodeterioro ambiental. Memorias. EDS. H. A. Videla, C. A. Giúdice. CYTED. Pp. 49-56.
- Guiamet P.S. Gómez de Saravia, S.G. Arenas P. Pérez, M.L., de la Paz, J., Borrego, D. F. 2006. Pharmacologyonline 3:537-544.
- Hueck, H. J. (1965). Materials and organism 1, 5-34.
- Madigan M.T., Martinko J.M. Parker J. 2004. Brock. Biología de los microorganismos. 10ª edición. Pearson Education S.A., Madrid. 1011 pp.
- Postgate J. R. 1984. The Sulphate-Reducing Bacteria. Cambridge, England, University Press, UK. p 24-40.
- Videla H.A., Guiamet, P. S., Gómez de Saravia, S. G. 2000. International Biodeterioration & Biodegradation 46, 335-341.

ESTUDIO DE LA ACCIÓN DE AGENTES REDUCTORES EN LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS QUERATINOLÍTICAS DE *TRICHOPHYTON AJELLOI*

Cavello I¹, Galarza B^{2,3}, Gortari MC^{1,2}, Hours R¹, Cantera C^{2,3}

1.- CINDEFI, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CONICET. Calle 47 y 115. (1900) La Plata 2.- CICBA

3.- CITEC- CICBA. Camino Centenario e/ 505 y 508. (1897) Manuel B. Gonnet
ivanacavello@yahoo.com.ar; betinagal@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una tendencia en aumento a utilizar enzimas en procesos biotecnológicos, constituyendo una alternativa más amigable con el medio ambiente y económicamente más beneficiosa. Las queratinasas son enzimas de interés en numerosos procesos industriales: industria textil, alimenticia, degradación de residuos y especialmente en la Industria del Cuero. En el proceso de depilado, durante la primera etapa de la obtención del cuero, se emplean preparados enzimáticos para asistir al sulfuro de sodio minimizando la concentración de sustancias tóxicas en el efluente.

El agregado de agentes reductores en la obtención de enzimas queratinolíticas potenciaría su producción por intervenir en la reacción de sulfitólisis (4).

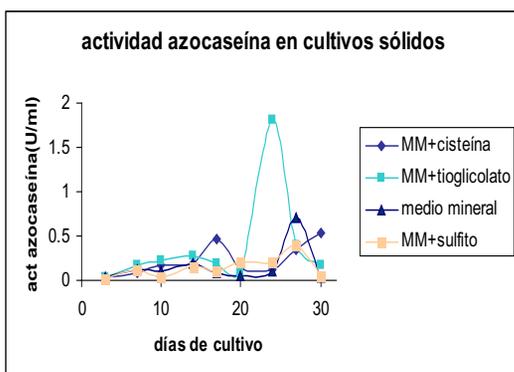
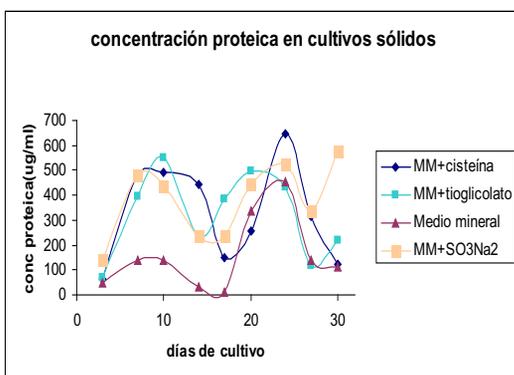
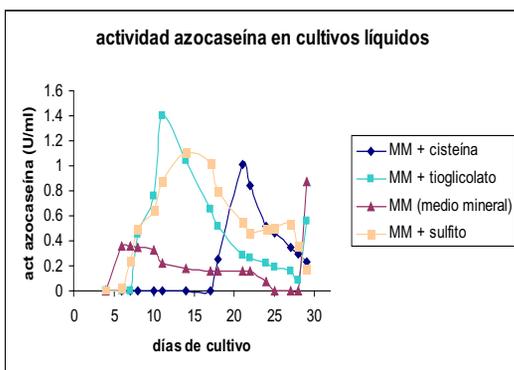
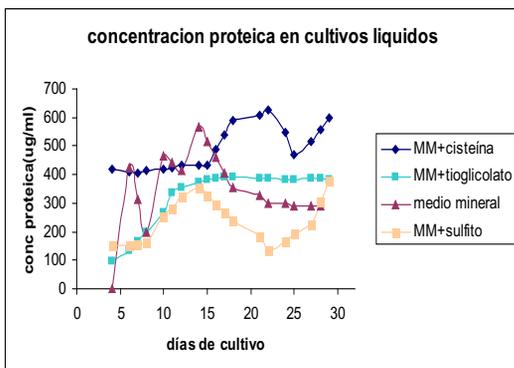
En el presente estudio se determinó el efecto de distintos agentes reductores en la producción de enzimas queratinolíticas de *Trichophyton ajelloi*.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se realizaron cultivos de *Trichophyton ajelloi* en medio sólido (MS) y líquido (batch) (ML) utilizando como única fuente de C y N el "residuo pelo" (RP) proveniente de un depilado conservador del pelo en Tecnología del Cuero (Galarza et al, 2007). El medio mineral utilizado estaba compuesto por: buffer fosfato NaH_2PO_4 - K_2HPO_4 , cloranfenicol 0,5 g/l y cantidades traza de Cl_3Fe , Cl_2Zn y Cl_2Ca , pH 7 (Ruffin et al., 1987). El RP fue previamente lavado, secado a 45°C, molido y autoclavado. Los medios fueron inoculados con 10^5 ufc/ml. Luego se agregaron distintos agentes reductores en una concentración final de 5mM en cada sistema: 1) clorhidrato monohidrato de L-cisteína 2) tioglicolato de sodio 3) sulfito de sodio (4). Ambos medios se incubaron a 28°C, y en agitación en el caso del líquido. La extracción se realizó cada 3 días en el caso del MS agregando 30 ml de CINa 0,5 N al contenido de cada placa. En el ML se separó el extracto enzimático del micelio por centrifugación. Ambos fueron filtrados a través de filtro de 45 μ , previo a su análisis. Se determinó el contenido proteico en $\mu\text{g/ml}$ por el método de Bradford (1) y la actividad azocaseinolítica de los extractos (2). Se definió la unidad de actividad azocaseinolítica como la cantidad de enzima que genera un aumento de 0,1 unidades de absorbancia $_{440\text{ nm}}$ por minuto y por ml.

RESULTADOS

En los gráficos de concentración proteica vs días de cultivo se puede observar que tanto en medio sólido como líquido los mayores valores se obtienen con el agregado de cisteína. En cuanto a la actividad azocaseinolítica, el tioglicolato en el ML produce un pico de actividad en el día 11, que supera 7 veces el producido por el medio mineral no adicionado, para ese mismo día.



DISCUSIÓN

La reacción de sulfitólisis es la primera etapa en el mecanismo de degradación de la queratina por parte de las queratinasas, haciendo más susceptibles las cadenas polipeptídicas al ataque enzimático-proteolítico.

$Cys-SS-Cys + HSO_3^- \rightarrow Cys-SH + Cys-SSO_3^-$ reacción de sulfitólisis (6)

El agregado de agentes reductores aumenta la producción de enzimas queratinolíticas interviniendo en la ruptura de los puentes disulfuro entre restos de cisteína adyacentes de la doble hélice queratínica.

El tioglicolato es usado por *Trichophyton ajelloi* como agente reductor y fuente de C mientras que la cisteína es incorporada como fuente de C y N (5).

Podemos concluir que estos agentes reductores pueden potenciar la producción de estas enzimas, aumentando sus posibilidades de utilización en diversas tecnologías.

BIBLIOGRAFÍA

- Bradford, M. 1976. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". *Ann. Biochem.* 72, 248-254.
- Cantera, C., Goya L., Galarza B., Garro M.L, López M.L. 2003 "Hair saving unhairing process Parte 5. Characterization of enzymatic preparations applied in soaking and unhairing process". *JSTLC* 87 n°3, p.69; p.89-90, 2003.
- Galarza BC., Garro ML., Cavello I., Cazau, MC, Hours R., Cantera CS. 2007 "Fungal biotransformation of bovine hair: assessment of structural changes". *JSTLC* 91, n°6,. ISSN 0144-0322, 229-232.
- Kunert, J. 1992. "Effect of reducing agents on proteolytic and keratinolytic activity of enzymes of *Microsporum gypseum*". *Mycoses*, 35, 343-348.
- Kunert, J., 2000. "Physiology of keratinophilic fungi" Libro editado por la Revista Iberoamericana de Micología, Ed. RKS Kushwaha & Guarro J., cap 10. Bilbao. ISBN 84-607-0711-3, 77-85.
- Ruffin P., van Russel E., Biguet J., Biserte G., 1979. "Caractérisation partielle de deux aminopeptidases (arylamidases) extracellulaires du dermatophyte *Keratinomyces ajelloi*". *Biochimie*, 61, 495-500.
- Ruffin, P, Andrieu, Biguet, J. 1976 "Sulphitolysis in keratinolysis. Biochemical proof." *Sabouraudia*, 14, 181-184.

EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A FLUORQUINOLONAS DE *ESCHERICHIA COLI* EN MUESTRAS DE ORINA DE LA COMUNIDAD EN LABORATORIOS DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (2005 A 2008)

**Domínguez H (1), Vaylet, S (2), Machain,M (3) , Sly, G (4),
Togneri, A (5), Di Bella, A (6), Turcato,G (7), Pacha, A (8)**

(1)Red de Vigilancia, (2) HIGA Dr. Penna, (3) HIGA A.Piñeyro, (4) HIGA Eva Perón, (5) HIGA Evita, (6) HN Dr Posadas, (7) HIAEP Sor María Ludovica, (8) HIEAyC San Juan de Dios.-
hdominguez@fibertel.com.ar

Resumen: *Escherichia coli* es el microorganismo más frecuente recuperado en las infecciones urinarias de origen comunitario y su tratamiento se instala en forma empírica con Norfloxacin, por lo cual es importante la vigilancia de la resistencia y la difusión de esos datos. La OPS/OMS ha desarrollado un programa de vigilancia, del cual participan 8 laboratorios de la Provincia de Buenos Aires. Para explorar la magnitud del problema se analizaron 10.350 cepas de pacientes ambulatorios entre los años 2005 y 2008. La resistencia encontrada en este estudio fue del 13% en los dos primeros años, 15% en el 2007 y del 14% en el 2008. Se clasificaron, además la resistencia por sexo y edad y se las comparó con la hallada en los años 2003 (6%) y 2004 (8%), con los demás centros argentinos de la red de Vigilancia y algunos países de Latinoamérica y España. Se concluyó que el uso de las FQ ha favorecido la diseminación de resistencia, y debe racionalizarse su administración en infecciones no complicadas. Para poder utilizarla en infecciones graves, en particular las intrahospitalarias

Palabras claves: *E.coli*-Fluorquinolonas. Vigilancia-Resistencia

INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario es una de las más frecuentes diagnosticadas en el paciente ambulatorio. La gran mayoría son debidas a bacilos gramnegativos, siendo el principal responsable *Escherichia coli*.

El tratamiento suele instalarse en forma empírica, por lo tanto es muy importante la vigilancia permanente de la resistencia y que esos datos se difundan para orientar al clínico. El antimicrobiano más usado la Norfloxacin que pertenece a la familia de las fluorquinolonas (FQ)

La OMS/OPS ha desarrollado un programa de vigilancia de la resistencia a antimicrobianos, a través de redes de laboratorio, para monitorear las tendencias regionales, detectar la aparición de resistencias inusuales y aportar bases para el uso racional de los antimicrobianos. Para Argentina el laboratorio coordinador es el INEI-ANLIS Carlos Malbran y la red esta constituida por 69 laboratorios, de los cuales 8 pertenecen a la Provincia de Buenos Aires

OBJETIVOS:

1. Evaluar la resistencia a FQ en *E.coli* entre los años 2005 y 2008
2. Comparar los datos con los perfiles de resistencia de años anteriores (2003 y 2004) y con otros estudios de vigilancia

3. Realizar recomendaciones para el uso racional de las mismas

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio multicentrico. Se analizaron un total de 10350 cepas recuperadas en muestras de orina de pacientes ambulatorios con diagnóstico de IU, entre los años 2005 y 2008

Se realizó la distribución de la resistencia según sexo y edad, en 4 grupos: mujeres menores y mayores de 14 años, varones menores y mayores de 14 años y por hospital

Los estudios de sensibilidad fueron realizados e interpretados según las pautas de referencia del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para el método de difusión en agar

Se compararon con los perfiles de resistencia de los años 2003 (1211 cepas) y 2004 (2810 cepas) de los laboratorios de la Pcia de Bs As, con los datos de Argentina y con algunos estudios de vigilancia de otros países de América Latina y España



RESULTADOS

Pertenecían a mujeres 85% y tuvieron menos de 14 años el 32% en ambos sexos. **(grafico 1 y 2)**

La resistencia encontrada en este estudio fue del 13 % en los años 2005 y 2006, del 15% en el 2007 y 14% en 2008. En años anteriores había sido del 6% en el 2003 y del 8% en el 2004 (gráfico 3)

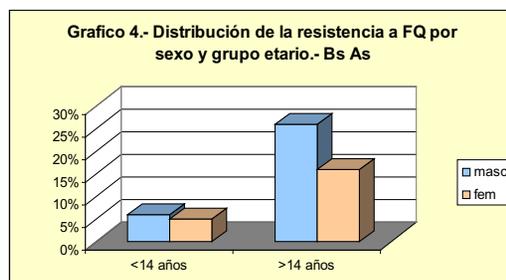
Siendo la resistencia del 5% en mujeres y 6% en varones menores de 14 años, y 16% en las mujeres y al 26% en varones en mayores de 14 años. (gráfico 4)

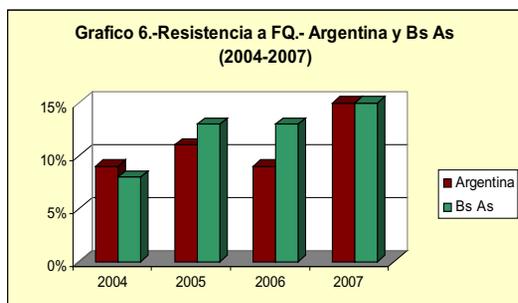
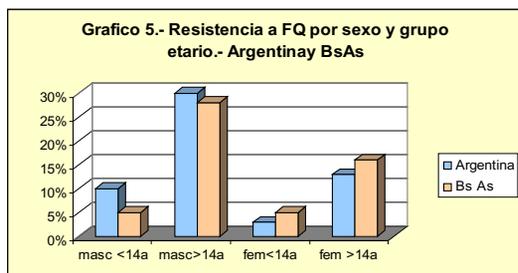
Para Argentina resultado inferior (3%) en mujeres menores de 14 años y superior en varones en el mismo grupo etario (10%).

Respecto a mayores de 14 años, es menor en mujeres (13%) y mayor en varones (30%). (gráfico 5)

Se puede ver que la resistencia de E.coli tanto en Argentina como en la Provincia de Buenos Aires ha variado entre los años 2004 y 2007 (gráfico 6)

Estudios de otros países informan resistencias mayores: España (18,7%), México (24,7%), Colombia (22,5%), Venezuela (19%), Perú (26,3%)





Resistencia a Quinolonas:

El primer mecanismo está asociado a mutaciones sobre el sitio blanco, la topoisomerasa II o girasa, enzima necesaria para la replicación y reparación del ADN bacteriano. Un segundo mecanismo, sumado al primero, involucra mutaciones que impiden alcanzar concentraciones intracelulares o dificultan el paso a través de la membrana, disminuyendo la permeabilidad a FQ. Las FQ pueden resistir la primera mutación, disminuye la sensibilidad, pero en IU podrían seguir usándose, no así las quinolonas no fluoradas

DISCUSIÓN

El uso de las FQ ha favorecido la diseminación de resistencia, se recomienda racionalizar su administración en infecciones no complicadas. Para poder utilizarla en infecciones graves, en particular las intrahospitalarias

Las diferencias encontradas entre los hospitales avalan la recomendación de conocer el perfil de resistencia local, antes de instalar un tratamiento empírico

Los resultados hallados por estas redes de vigilancia deben servir de base para que los países pongan en práctica acciones para prevenir la aparición de

la resistencia a los antibióticos. Se debe divulgar la magnitud del problema, su enorme costo, cuáles son las políticas preventivas y como organizarlas, sin olvidar la prevención de diseminación de cepas resistentes a través de los alimentos, lo que extiende el interés y las implicancias del problema a la sanidad animal y a la producción pecuaria

BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Sánchez Merino J. et.al. Evolución de la resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* en muestras de orina procedentes de la comunidad, Archivos españoles de urología, vol 61 N° 7, Madrid 2008
- 2.-Andreu A, Planeéis I. Etiología de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad y resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos de primera línea. Estudio nacional multicentrico, MED Clin (Barcelona), 2008
- 3.-Andrade SS, et al. Necesidad de Guías de Tratamiento Locales para Infecciones Urinarias Adquiridas en la Comunidad, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 101(7):741-748, Nov 2006
- 4.-Cordies Jackson L. Quinolonas y terapia antimicrobiana, Acta Medica 1998
- 5.-Mendoza Sánchez G, et.al. Resistencia a ciprofloxacina en la infección urinaria por *Escherichia coli*, Boletín de la Sociedad Peruana de Medicina Interna, vol 14 n°1, 2001
- 6.-Programa Whonet. Protocolos 2005, 2006, 2007 y 2008.
- 7.-Red de Vigilancia de la Resistencia en Argentina, años 2004, 2005, 2006, 2007
- 8.-Red de Vigilancia de la Resistencia en la Provincia de Buenos Aires. 2003, 2004, 2005, 2006, 2007 y 2008

REMOCIÓN DE DBO₅, NUTRIENTES Y BACTERIAS EN HUMEDALES DE TRATAMIENTO DE FLUJO VERTICAL ASCENDENTE

DI GIORGI, H. D.^{1,2}, REP, R. R.² & MARIÑELARENA, A. J.^{1,2}

¹Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

²Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet" (ILPLA) CONICET-UNLP
digio@ilpla.edu.ar

INTRODUCCION

Muchos ambientes acuáticos de la provincia de Buenos Aires se encuentran afectados por el vuelco de aguas residuales sin tratamiento o deficientemente tratadas. La solución a ésta situación no parece sencilla. El elevado costo de construcción de sistemas convencionales de tratamiento hace que su aplicación resulte inviable en numerosas situaciones. Además, su eficacia resulta reducida a menudo, debido a que su operación requiere un aporte elevado de insumos y una importante capacitación técnica que no siempre se encuentran disponibles. También suele ser difícil y costoso sostener un mantenimiento adecuado de las instalaciones. En las últimas décadas ha cobrado impulso el desarrollo de sistemas de tratamiento alternativos que pueden resultar más económicos y eficaces. Humedales artificiales, diseñados y construidos para el tratamiento de aguas residuales, pueden brindar una opción, técnica y económicamente ventajosa. En un manual sobre el tema, se consignan cerca de 1000 humedales funcionando actualmente en el mundo (Kadlec & Wallace, 2009), principalmente en EEUU, Canadá, Australia, Nueva Zelanda y varios países de Europa. Si bien ya se dispone de diversos diseños ampliamente probados, la tecnología experimenta una activa innovación.

Entre las variables de diseño más importantes puede mencionarse el patrón de flujo de agua (Breen PF & Chick AJ 1995). Los primeros humedales ensayados fueron de flujo superficial, esto es, con agua libre circulando entre la vegetación. Luego se experimentó con humedales de flujo subsuperficial, con plantas arraigadas en un relleno poroso. En éste caso, el agua debe circular a través de la matriz colonizada por las raíces. Los primeros diseños de éste tipo tuvieron un patrón de flujo horizontal. En los últimos años se desarrollaron experiencias con flujo vertical, principalmente descendente. La eficacia de estos sistemas ha resultado muy variable, en particular, en lo que a remoción de nutrientes se refiere (Verhoeven TA & Mueleman AFM 1999). La composición del material de relleno y las especies vegetales utilizadas parecen ser importantes variables que afectan el rendimiento. El objetivo de este trabajo fue ensayar el potencial de remoción de DBO₅, nutrientes y bacterias en mesocosmos de humedales de flujo vertical ascendente, con dos materiales de relleno diferentes, vegetados con diversas especies de macrófitas emergentes de la región.

MATERIALES Y METODOS

Se construyeron 36 mesocosmos de humedales con secciones de 70 cm de caño de PVC Ø 20 cm tapadas en su base. La mitad de los recipientes se llenaron hasta 50 cm con conchilla, la otra mitad con un producto granular de arcilla (LECA). En cada grupo se plantaron de manera monoespecífica por triplicado *Phragmites australis*, *Scirpus californicus*, *S. giganteus*, *Typha sp* y *Zizaniopsis bonariensis* (en conchilla sólo prosperó un mesocosmos de esta última, en su reemplazo se plantó *Carex riparia*).

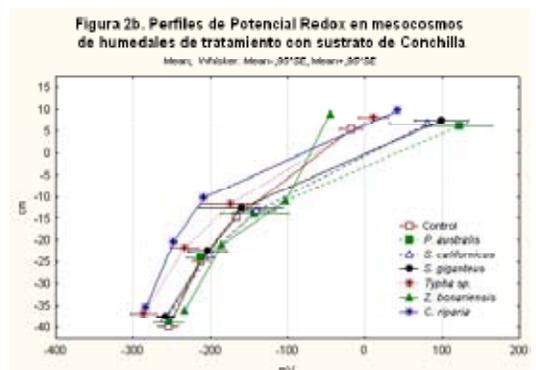
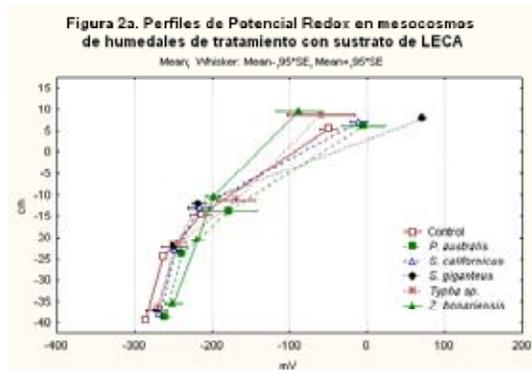
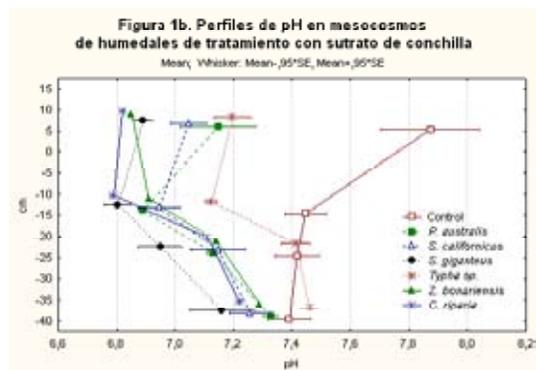
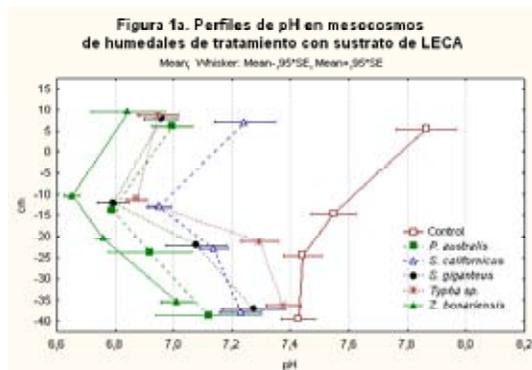
Tres mesocosmos por grupo se dejaron sin plantas como control. Se alimentó a cada mesocosmos con un flujo homogéneo de 0,2 L/h mediante un sistema automático de distribución de agua proveniente de un reservorio anaeróbico. El patrón de flujo adoptado fue de tipo vertical ascendente. Para ello, se hizo ingresar el agua a través de un caño lateral vertical conectado a la base y se colocó un vertedero a 10 cm por encima del nivel de sustrato para la salida del agua. Se realizaron perforaciones laterales en los recipientes para el muestreo de relleno y agua intersticial de 10, 20 y 35 cm de profundidad. Los mismos fueron sellados con tapones de goma atravesados por un tubo para el muestreo de agua, tapado en el extremo exterior.

Luego de dos años de alimentación con agua potable (periodo de maduración), el sistema comenzó a recibir agua residual artificial desde un reservorio alimentado con agua potable y una dosis de leche y de una solución concentrada de nutrientes. Cuatro meses después (16

al 28.05.08) se realizó el primer muestreo. Se colectaron muestras de salida del reservorio y de cada mesocosmos, y muestras de agua intersticial. Estas últimas fueron colectadas conectando una manguera al tubo muestreador, recibiendo el agua en botellas para DBO con el extremo de la manguera sumergido en el fondo para evitar el intercambio de gases con la atmósfera. Se midió temperatura (T), pH, oxígeno disuelto (DO), potencial redox (ORP), fósforo reactivo soluble (SRP) y nitrógeno amoniacal ($N-NH_4^+$), y se realizaron ensayos de DBO_5 y recuentos de Bacterias coliformes totales (Clesceri et al. 1998). Se determinó también nitritos + nitratos ($N-NO_2^- + NO_3^-$; Doane & Horwarth, 2003) y nitrógeno y fósforo total (TN & TP; Valderrama, 1981).

RESULTADOS

La temperatura medida durante el periodo de muestreo fue de 9,5 °C en el reservorio, $15,6 \pm 0,6$ °C en los mesocosmos con conchilla y $15,2 \pm 0,3$ °C en aquellos



rellenos con LECA. Los valores de pH se muestran en las figuras 1a y 1b en función de la profundidad, para las distintas especies de plantas en mesocosmos de LECA y de conchilla respectivamente. En los controles sin plantas el pH aumentó desde el fondo hasta la superficie. En los mesocosmos con plantas, en cambio, se observó un descenso del pH desde el fondo hasta los 10 cm de profundidad, neutralizándose luego en el agua libre. El valor más bajo ($6,65 \pm 0,03$) se registró con *Z. bonariensis* en LECA a los 10 cm de profundidad.

Las mediciones de potencial redox mostraron condiciones altamente reducidas a 35 cm de profundidad. El potencial aumentó gradualmente hacia la superficie en ambos rellenos, con y sin plantas (figuras 2a y 2b). El oxígeno disuelto (no se muestran datos) mostró una tendencia similar en todos los mesocosmos, con valores próximos a cero dentro del sustrato y un incremento variable en el agua libre sobrenadante.

En todos los mesocosmos vegetados con relleno de conchilla, y en los de LECA con *S. giganteus*, se midieron remociones de TP ≥ 98 %, con concentraciones finales $< 0,15$ mg P/L (Tabla 1). El resto de los mesocosmos vegetados con relleno de LECA mostraron remociones ≥ 79 % y aún el control con conchilla sin vege-

tación mostró una remoción del 45 %. Considerando que más del 60 % del TP del agua de ingreso a los mesocosmos es SPR (no se muestran datos), los perfiles de concentración de SRP reflejan de manera congruente las remociones observadas. Se observa una disminución desde el fondo hacia la superficie en todos los mesocosmos (figura 3a y 3b respectivamente), aunque la misma es más intensa y profunda en aquellos vegetados en conchilla, alcanzando a 10 cm de profundidad valores muy bajos (desde 48 ug P/L con *Z. bonariensis* hasta 513 ± 161 ug P/L en *Typha sp.*)

La remoción de TN fue ≥ 90 % en todos los mesocosmos de conchilla con plantas (excepto *Typha sp.*) y en LECA con *P. australis* y *Z. bonariensis* (Tabla 2). El resto de los mesocosmos vegetados mostraron remociones desde 57 % (conchilla con *Typha sp.*) hasta 87 % (LECA con *S. giganteus*). Los controles, en cambio, no superaron el 20%. Los perfiles de concentración de amonio muestran una disminución progresiva desde el fondo hacia la superficie, más marcada en los tratamientos con mayor remoción, con valores bajos a partir de los 10 cm de profundidad (figuras 4a y 4b). Es interesante destacar que en los perfiles de nitritos + nitratos (no se muestran datos) las concentraciones se mantuvieron bajas, a excepción de un pico a -10 cm en conchilla con *S.*

Tabla 1. Fósforo Total (ug P/L) en muestras de ingreso y egreso de mesocosmos de humedales de tratamiento

	LECA			Conchilla		
	Media	Error estándar	Remoción %	Media	Error estándar	Remoción %
Ingreso	6308	404	-----	6308	404	-----
Control	7359	121	-17	3460	185	45
<i>P. australis</i>	374	306	94	82	60	99
<i>S. californicus</i>	725	498	89	42	5	99
<i>S. giganteus</i>	146	43	98	120	34	98
<i>Typha sp.</i>	998	375	84	68	27	99
<i>Z. bonariensis</i>	1351	774	79	105	-----	98
<i>C. riparia</i>	-----	-----	-----	70	-----	99

Tabla 2. Nitrógeno Total (ug N/L) en muestras de ingreso y egreso de mesocosmos de humedales de tratamiento

	LECA			Conchilla		
	Media	Error estándar	Remoción %	Media	Error estándar	Remoción %
Ingreso	35775	1678	-----	35775	1678	-----
Control	29198	1517	18	28767	1519	20
<i>P. australis</i>	527	265	99	797	458	98
<i>S. californicus</i>	10315	5410	71	989	425	97
<i>S. giganteus</i>	4539	2206	87	1802	8301	95
<i>Typha sp.</i>	5978	2765	83	15246	2571	57
<i>Z. Bonariensis</i>	2325	928	94	3752	-----	90
<i>C. riparia</i>	-----	-----	-----	5017	-----	86

Figura 3a. Perfiles de Fósforo Reactivo Soluble en mesocosmos de humedales de tratamiento con sustrato de LECA

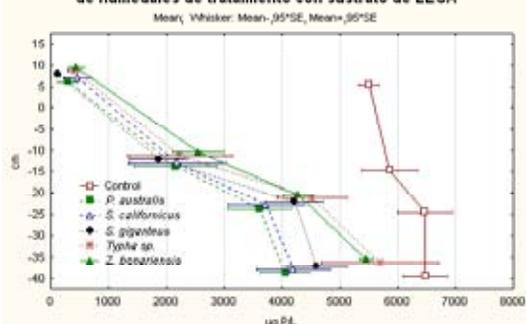


Figura 3b. Perfiles de Fósforo Reactivo Soluble en mesocosmos de humedales de tratamiento con sustrato de conchilla

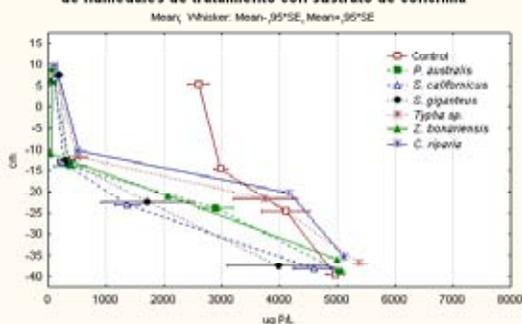


Figura 4a. Perfiles de amonio en mesocosmos de humedales de tratamiento con sustrato de LECA

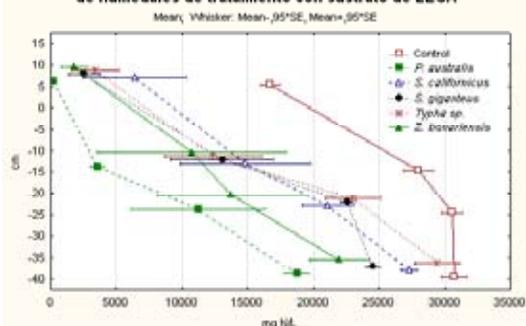
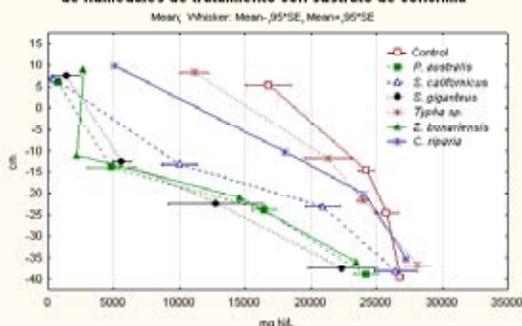


Figura 4b. Perfiles de amonio en mesocosmos de humedales de tratamiento con sustrato de conchilla



californicus (5737 ± 1985 ug N/L) y en el agua libre de los controles (5001 ± 471 y 3103 ± 478 ug N/L, en LECA y conchilla respectivamente).

Las remociones de DBO_5 fueron de 96 y 93 % con *P. australis*, 98 y 92 % con *S. californicus*, 88 y 92 % con *S. giganteus*, 66 y 51 % con *Typha sp.*, 80 y 76 % con *Z. bonariensis* y -4 y 33 % sin plantas, para LECA y conchilla respectivamente (concentración de ingreso: 46 ± 8 mg/L).

Se realizaron recuentos de bacterias coliformes totales registrándose reducciones de hasta 3 log10 en algunos de los mesocosmos vegetados.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que las plantas ejercen un efecto marcado sobre casi todas las variables examinadas. El pH disminuye en todos los mesocosmos vegetados, con cierta variabilidad entre especies en cada tipo de sustrato. Este efecto podría relacionarse con el transporte de oxígeno a las raíces que permite a

estas plantas sobrevivir en suelo inundado. Parte de ese aporte difunde al entorno radicular (pérdida radial de oxígeno, ROL) pudiendo sostener respiración aerobia microbiana, provocando así un aumento importante de la producción de CO_2 y, con ello, la disminución de pH. Otra fuente muy importante de acidez podría ser la oxidación de amoníaco dependiente de O_2 .

No se observaron diferencias en los perfiles de potencial redox ni en los de oxígeno disuelto, que permitan atribuir a las plantas efecto alguno sobre éstas variables. Sin embargo, hay trabajos que demuestran que las raíces son capaces de elevar el ORP y el DO mediante ROL, alcanzando éste efecto unos pocos milímetros de extensión (Bezbaruah AN & Zhang TC, 2004).

Respecto de la remoción de fósforo, se observó que la misma dependió tanto de las plantas como del sustrato. Si bien las plantas requieren fósforo para su crecimiento y reproducción, la cantidad que asimilan para ello es generalmente

insignificante comparada con la carga de ingreso (Brix, 1997). Sin embargo, hemos visto que las plantas son capaces de cambiar las condiciones fisicoquímicas. Por otro lado, los procesos de retención de fósforo dependen también del material de relleno en cuanto a su capacidad de provocar la adsorción y/o precipitación de aquel. En tal sentido, la LECA ofrece la posibilidad de retener fósforo debido a su elevada capacidad de intercambio iónico mientras que la conchilla representa un depósito de calcio que podría permitir retener fósforo mediante precipitación como hidroxiapatita. Los resultados mostraron que la máxima remoción ocurrió en mesocosmos de conchilla con plantas. La disminución de pH provocada por las plantas podría disolver conchilla aumentando la concentración de calcio iónico, favoreciendo así la precipitación de hidroxiapatita. Sin embargo, se requiere pH alcalino para que esto ocurra. Es posible que tal condición se encuentre sobre la superficie de conchilla.

La remoción de NT mostró una diferencia notable entre mesocosmos vegetados y controles. En los perfiles se observa que la remoción ocurre por oxidación de amonio dentro del sustrato, acoplada a la reducción de nitritos + nitratos. Esto podría explicarse por un proceso de nitrificación – desnitrificación (Reddy KR, et al., 1989) aunque actualmente es posible postular otros procesos de remoción de nitrógeno, a partir del descubrimiento de la oxidación anaeróbica de amoníaco (Anammox) y de los crenarqueotas oxidadores aeróbicos de amoníaco. Sin embargo, todos ellos dependen de la oxidación inicial de amoníaco con O_2 . Bajo las condiciones experimentales, el aporte de O_2 al interior del relleno depende de la ROL. Esto podría explicar la relación observada entre remoción de nitrógeno y presencia de plantas.

Para evaluar la hipótesis de remoción de fósforo mediante precipitación como hidroxiapatita, se propone aplicar la metodología de fraccionamiento del fósforo sobre muestra de sustrato a distintas profundidades. Se propone asimismo di-

lucidar el proceso microbiano de remoción de nitrógeno a través de la detección de bacterias del ciclo del nitrógeno utilizando FISH (Fluorescent in situ hybridization) sobre las mismas muestras.

Si bien los resultados obtenidos muestran un potencial promisorio de esta tecnología para la remoción de nutrientes en aguas residuales, resulta imprescindible realizar ensayos a mayor escala y con efluentes reales para valorar su alcance como alternativa de tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Bezbaruah AN, Zhang TC. (2004) pH, redox, and oxygen microprofiles in rhizosphere of bulrush (*Scirpus validus*) in a constructed wetland treating municipal wastewater. *Biotechnol Bioeng* 88:60–70
- Breen PF, Chick AJ (1995) Rootzone dynamics in constructed wetlands receiving wastewater: a comparison of vertical and horizontal flow systems. *Wat Sci Tech* 32: 281–290
- Brix H (1997) Do macrophytes play a role in constructed treatment wetland? *Wat Sci Tech* 35: 11–17
- Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater 20th Ed. APHA, AWWA, WEF
- Doane TA, Horwath WR (2003) Spectrophotometric determination of nitrate with a single reagent. *Analytical Letters* 36: 2713–2722
- Kadlec, RH & Wallace, SD (2009) Treatment wetlands, 2nd Edition. CRC Press, Boca Raton FL
- Mar. Chem.* 10 (1981) 109–122 109
- Reddy KR, Patrick WH, Lindau CW (1989) Nitrification–denitrification at the plant root sediment interface in wetlands. *Limnol Oceanogr* 34: 1004–1013
- Valderrama, J (1981) The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters
- Verhoeven TA, Mueleman AFM (1999) Wetlands for wastewater treatment: Opportunities and limitations. *Ecol. Eng.* 12:5–12

UTILIDAD DE TRES MÉTODOS POR DIFUSIÓN PARA DETECTAR RESISTENCIA A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL EN CANDIDA SPP. DE ORIGEN CLÍNICO

Córdoba S., Vivot W., Isla G., Taverna C., Szusz W., Davel G.

Dto. Micología, INEI, ANLIS "Dr. C. G. Malbrán". Av. Vélez Sarsfield 563, CABA.
scordoba@anlis.gov.ar

INTRODUCCIÓN

Las infecciones fúngicas invasoras en pacientes hospitalizados son causadas en su mayoría, por levaduras del Género *Candida* (3,5). El uso de antifúngicos, principalmente azoles en la profilaxis o en el tratamiento, generó cambios en la epidemiología de las micosis con la aparición de especies menos susceptibles. Ante estos cambios, la determinación de la susceptibilidad *in vitro* frente a los antifúngicos es prioritaria (3,5). Los métodos de referencia (MR) E.Dis 7.1 del EUCAST (2) y M27-A del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (7), permiten detectar la concentración inhibitoria mínima (CIM) *in vitro* y muestran cierta correlación con la evolución clínica de los enfermos. Además, aportan información útil para vigilar la resistencia de *Candida* spp. y son una herramienta confiable para el manejo clínico de los pacientes con infecciones severas. Sin embargo, son onerosos y muy laboriosos para los laboratorios clínicos. Por otra parte, existen técnicas comerciales, asequibles y de simple realización, cuya eficacia es necesario conocer antes de implementar su uso en la rutina diaria.

Objetivos: a-Determinar la susceptibilidad *in vitro* de especies de *Candida* frente fluconazol y voriconazol por el método de referencia E. Def 7.1 y por difusión en agar con Tabletas y Discos cargados con antifúngicos. b-Comparar los resultados y determinar la concordancia entre los métodos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos: se determinó la susceptibilidad *in vitro* a un panel de 200 cepas de *Candida* spp., aisladas de diferentes materiales clínicos (hemocultivo, catéter, biopsia, otros) pertenecientes a la colección de cultivos del Dto. Micología del INEI ANLIS "Dr. C. Malbrán" que ingresaron durante el período 1993-2008, e incluía cepas resistentes (R) y sensibles dependiente de dosis (SSD) a los azoles. Las levaduras fueron identificadas mediante el estudio de las características micromorfológicas, fisiológicas, según el método de Kurtzman (4).

Susceptibilidad *in vitro*: la CIM se determinó según el MR E. Def 7.1, con medio de cultivo RPMI 1640, inóculo 1-5 x 10⁵ UFC/mL, incubación 24 h a 35°C, lectura con espectrofotómetro (2). Las pruebas por difusión en agar se determinaron según el MR M44-A2 (CLSI) (6) y se utilizaron Tabletas Neo-Sensitabs TM (Rosco, Dinamarca) (9), Discos Oxoid y Discos Malbrán (9) cargados con fluconazol (25 µg) y voriconazol (1 µg).

Antifúngicos: fluconazol (FZ) y voriconazol (VZ) (Pfizer, Argentina).

Interpretación: para las tabletas y los discos Oxoid se consideraron los puntos de corte

propuestos por el fabricante (8,11) según se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1. Puntos de corte para fluconazol y voriconazol M44-A2 (mm) Método de Referencia (mg/L).

	M44-A2 (mm)			Método de Referencia (mg/L)	
	S	SDD	R	S	R
Fluconazol	19	18-15	14	=8	=64
Voriconazol	17	16-14	13	1	4

S: sensible; SDD: sensible dosis dependiente; R: resistente

Tabla 2. Distribución por categorías de susceptibilidad según el método utilizado

Categoría	CIM		Discos Malbrán	Tabletas Rosco		Discos Oxoid	
	FZ	VZ	FZ	FZ	VZ	FZ	VZ
Susceptibles	179	196	170	152	162	152	162
SDD	12	--	--	8	1	4	1
Resistentes	9	4	11	6	1	8	1
Total	200	200	181	166	164	164	164
Error very mayor			1	2	2	2	2
Error mayor			6	6	0	5	0
Error minor			1	5	1	4	1

SDD: sensible dependiente de dosis; FZ: fluconazol; VZ: voriconazol;

Tabla 3. Porcentaje de concordancia total para cada método con el método de referencia

Discos Malbrán	Discos Oxoid		Tabletas Rosco	
Fluconazol	Fluconazol	Voriconazol	Fluconazol	Voriconazol
91,0	82,0	95,1	78,0	95,1

Para el Disco Malbrán se consideró susceptible a FZ cuando el diámetro del halo fue ≥ 16 mm, los valores menores se consideraron no susceptibles (9).

RESULTADOS

Se estudió la susceptibilidad in vitro de 200 levaduras, incluyendo los controles ATCC *Candida parapsilosis* 22019 y *Candida krusei* 6258.

Las especies fueron: *Candida albicans* n= 77; *C. tropicalis* n=35; *C. parapsilosis* n= 32; *C. glabrata* n=20; *C. dubliniensis* n=6; *C. krusei* n=5; *C. lusitaniae* n= 5; otras n= 20.

En la Tabla 2 se muestra la distribución por categorías de susceptibilidad para los métodos utilizados. En general, los métodos por difusión ensayados identificaron sin inconvenientes a las cepas

susceptibles, aunque se observaron 2 errores very mayor para fluconazol y voriconazol cuando se usaron las Tabletas y los Discos Oxoid.

En la Tabla 3 se muestra el porcentaje de concordancia de cada método por difusión con en método de referencia.

DISCUSIÓN

Las especies de *Candida* son causa de la mayoría de las infecciones fúngicas invasoras en pacientes hospitalizados (3,10). La elección del tratamiento es decisiva para asegurar la mejor evolución clínica de los pacientes. En este sentido, el conocimiento de los valores de susceptibilidad a los antifúngicos es de utilidad al momento de elegir el tratamiento más eficaz.

Los métodos de referencia E. Dis 7.1 y M27-A3 permiten determinar la CIM

de las cepas de levaduras en estudio, sin embargo, son técnicas sofisticadas, cuya ejecución no está indicada para la rutina diaria (2, 7). Por otra parte, los métodos comerciales, son asequibles y de fácil realización en los laboratorios clínicos, con ellos se pueden obtener resultados fiables y comparables con los estándares. No obstante, los factores técnicos inherentes a los distintos métodos pueden interferir con la interpretación de los resultados, motivo por el que es mandatario compararlos con el método de referencia antes de decidir su implementación (1,8,9).

En nuestro trabajo comparamos los resultados de susceptibilidad *in vitro* obtenidos por tres técnicas de difusión en agar versus el método de referencia. El método por difusión permitió detectar al 94,5; 92,7 y 91,5 % de las cepas susceptibles al fluconazol por Disco Malbrán, Disco Oxoid y Tabletas Neo Sensitabs respectivamente. Mientras que para voriconazol, tanto el Disco Oxoid como las Tabletas Neo Sensitabs identificaron al 98,8% de las cepas susceptibles.

Nuestros resultados coinciden con trabajos de otros autores, en los que hacen referencia de la aparición de errores very major cuando determinan susceptibilidad frente a fluconazol con las tabletas de Neo Sensitabs (1,8,12). Con respecto a la concordancia general, observamos que entre el método de referencia y los métodos por difusión para FZ y VZ fue del 84,4 y 95,1 % respectivamente. Además, los Discos Malbrán y Discos Oxoid fueron más efectivos para detectar *in vitro* a las cepas susceptibles (8,9). La determinación de susceptibilidad por métodos de difusión en agar constituiría una alternativa potencialmente útil para ser utilizados en los laboratorios hospitalarios. Con ellos sería posible distinguir cepas de *Candida* spp. resistentes a los antifúngicos, aunque es necesario realizar los ensayos bajo estricto control de los factores técnicos y por otra parte remitir al laboratorio referente todos las cepas no susceptibles para su confirmación por el método estándar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD. Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, Etest, and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46:1781-4.
2. EUCAST Definitive Document E.Def 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 398-405.
3. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, Marr KA, Pfaller MA, Chang CH, Webster KM. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009 15;48(12): 1695-703.
4. Kurtzman & Fell; NJW. The yeast, a taxonomic study. Ed. Elsevier Science Publisher B.W., Amsterdam, 1998.
5. Lewis RE. Overview of the changing epidemiology of candidemia. *Curr Med Res Opin* 2009; 25: 1732-40.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Approved Guideline, (2004) Document M44-A. Wayne, Pa, USA.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standard M27A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, USA, 2002.
8. Pfaller MA, Diekema DJ, Rinaldi MG, Barnes R, Hu B, Veselov AV, et al. (2005) Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study: a 6.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* and other yeast species to fluconazole and voriconazole by standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol*; 43:5848-59.
9. Rodero L, Córdoba S, Vivot W, Campo M, Corfield P, Olguín C, Cuirolo A, Soria M, Guelfand L, Canteros CE, Davel G y participantes de la RED WHONET (2006). Método de difusión con discos para la determinación de sensibilidad a fluconazol en aislamientos de *Candida* spp. *Rev. Arg. Microb.* 38: 155-163.
10. Rodero L, Davel G, Soria M, Vivot W, Córdoba S, Canteros C et al. Estudio Multicéntrico de fungemias por levaduras en la República Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2005; 37: 189-195.
11. User's Guide NEO-SENSITABS TM Susceptibility testing, 18th Ed. 2005/2006. Rosco Diagnostica A/S.
12. Vandenbossche I, Vanechoutte M, Vandevenne M, De Baere T, Verschraegen G. Susceptibility Testing of Fluconazole by the NCCLS Broth Macro-dilution Method, E-Test, and Disk Diffusion for Application in the Routine Laboratory. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 918-921.

ENFERMEDADES PARASITARIAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS: EPTA

Bact. Radman Nilda E y Bact.Linzitto Oscar R.

Cátedras de Parasitología Comparada y Microbiología Especial. FCV. UNLP Argentina

Email: linzay1953@yahoo.com.ar nildarad@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias están ampliamente distribuidas, características biológicas, fisiológicas y adaptativas de los distintos Phyla parasitarios contribuyen para que así sea. En su epidemiología concurren factores inherentes al parásito, al ambiente y al aspecto sociocultural. Los diversos grupos parasitarios cuentan con atributos que les posibilitan adaptarse a nuevos hospedadores, sobrevivir dentro de ellos (ubicación en sitios inmunológicamente privilegiados, variabilidad antigénica etc.) y resistir condiciones ambientales adversas en sus etapas no parasitarias. Las características de sus formas de diseminación e infectantes (gruesas cubiertas en huevos, quistes y ooquistes, así como vainas en algunas larvas etc.), coadyuvan en su particular resistencia que les permite sobrevivir semanas y meses fuera del hospedador.

Los parásitos de ciclo biológico directo e indirecto pueden ser agentes etiológicos de enfermedades parasitarias transmitidas por alimentos (EPTA). La incorporación de hábitos en prácticas de cría de animales, o en la elaboración de los alimentos se asocia a veces a la aparición de EPTA. Las EPTA no están muy reconocidas, sin embargo están ampliamente difundidas. Varios factores hacen que su tendencia a incrementarse se vea favorecida, entre otros:

- Mayor consumo de proteínas animales.
- Incorporación de nuevas especies animales en la elaboración de alimentos.
- Mayor intercambio de alimentos entre los distintos países.
- Mayor frecuencia de viajes con destinos intra e internacionales.
- Poblaciones más susceptibles (desnutrición, medicación indiscriminada con corticoides, transplante de órgano, SIDA).
- Internacionalización de hábitos culinarios.
- Incorporación en los países de parasitosis exóticas mediante mascotas no convencionales o animales domésticos sin controles veterinarios completos.
- Contratación de trabajadores ocasionales provenientes de zonas endémicas de ciertas parasitosis (vendimia etc).
- Incorporación de prácticas inadecuadas en alguna etapa del proceso del alimento desde su producción hasta su elaboración y almacenamiento.

Los alimentos ya sea de origen vegetal o animal pueden contener parásitos u observarse en ellos cambios en algunas características organolépticas a consecuencia de haber estado parasitado el organismo animal o vegetal del cual derivan. Pueden también actuar como vehículos inanimados de parasitosis humanas, animales y zoonóticas. Las formas evolutivas de estos parásitos no sufren modificación alguna en cuanto a número en los alimentos. Las granjas orgánicas, que utilizan guano de animales como abono sin tratamiento de fermentación o habiendo sido este tratamiento incompleto corren el riesgo de incorporar formas parasitarias viables que resulten infectantes para los consumidores. Tal podría ser el caso de protozoarios de los Géneros *Toxoplasma*, *Isospora*, *Cryptosporidium*, *Balantidium*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba* y los Microsporidios que han emergido como importantes patógenos vinculados con alimentos, entre otros.

Dentro de los helmintos *Fasciola hepática*, *Fasciolopsis sp*, *Echinococcus granulosus*, *Taenia sp*, *Trichinella spiralis* pueden también contaminar al hombre por medio de los alimentos contaminados de diversas maneras. El pescado puede estar infectado por estadios de una gran variedad de parásitos, *Opisthorchis sp.*, *Clonorchis sp*, *Diphyllobotrium, sp*, *Gnathostoma sp*, *Anisakis sp*. Mediante las carnes pueden también transmitirse Pentastómidos.

Adquieren importancia los individuos parasitados, que intervienen como manipuladores de alimentos que luego de su procesamiento estos alimentos no son sometidos a temperaturas de cocción o pasteurización, procesos estos que anulan la viabilidad de las formas infectantes de los protozoos.

Los alimentos de origen animal son frecuentemente portadores de estadios evolutivos de parásitos. Al ser ingeridas crudas o insuficientemente cocidas por el hombre o los animales pueden continuar con su evolución y causar enfermedad

Las contaminaciones parasitarias de un alimento pueden producirse:

En su lugar de origen

Alimentos de origen vegetal (por agua de riego, por excretas animales directas o indirectas, por excretas humanas).

Alimentos de origen animal (por trasladar etapas parasitarias como parte de ciclos biológicos).

En su almacenamiento, empaque, traslado y elaboración

- Alimentos de origen vegetal
- Alimentos de origen animal
- Alimentos elaborados

En todos los casos por manipuladores de alimentos, animales sinántropicos y/o ectoparásitos. Ampliando el concepto de EPTA, debemos tener en cuenta que algunas no influirán específicamente en la salud humana, sino que lo harán en la salud animal ocasionando cuantiosas

pérdidas económicas. La identificación de elementos parasitarios en alimentos o en agua requiere técnicas más complejas que las que se utilizan en el análisis de heces ya que en ellas sus formas de diseminación se encuentran mucho más concentradas. El análisis generalmente incluye procesos de elución, concentración, purificación y detección.

Una complicación para la investigación de elementos parasitarios en alimentos es que no se hallan uniformemente distribuidos en la muestra. Además el número presente es generalmente pequeño debido en parte a la gran dilución que sufren en el medio y, a diferencia de las bacterias, no crecen en medios de cultivo, por lo cual es más difícil trabajar en el diagnóstico de parásitos en alimentos. Las técnicas de ampliación genética son promisorias pero no rutinarias.

PROTOZOOS QUE PUEDEN SER CAUSANTES DE EPTA

Los protozoos, individuos unicelulares, pertenecen a distintos Phyla. Muchos de ellos son enteroparásitos y presentan como parte de su evolución formas de resistencia, quistes, ooquistes o esporos que son eliminados con las heces del hombre y/o los animales y permanecen viables en el medio ambiente durante períodos de tiempo prolongados. Es así que tienen posibilidades de contaminar alimentos.

Algunos parásitos como *Giardia lamblia intestinalis* y *Entamoeba histolytica* han sido responsables de diversos cuadros infecciosos vinculados con el consumo de alimentos. Recientemente *Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium sp.* y los Microsporidios han emergido como importantes patógenos vinculados con alimentos. Llegan a ellos mediante las aguas de riego cuando no son tratadas convenientemente o hubo algún tipo de alteración en la potabilización del agua, o por la presencia de formas parasitarias que por sus características franquean el proceso de potabilización en alguno de sus pasos; como es conocido ocurre con los quistes de *Giardia lamblia* debido a su

Tabla 1. Protozoos posibles agentes de EPTA humanas agrupados según el Phylum y Orden al que pertenecen Hausmann K, and Hülsmann N

Apicomplexa	<i>Adeleida</i> <i>Eimeriida</i>	<i>Toxoplasma gondii</i> <i>Cryptosporidium</i> sp <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Isospora belli</i> <i>Sarcocystis</i> sp
Retortamonada	<i>Retortamonadida</i> <i>Enteromonadida</i>	<i>Giardia lamblia</i> <i>Enteromonas</i> sp
Euglenozoa	<i>Trypanosomatida</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Sarcodina	<i>Amebida</i> <i>Schizopyrenida</i>	<i>Entamoeba histolytica</i> / <i>dispar</i> <i>Entamoeba coli</i> <i>Endolimax nana</i> <i>Iodamoeba buschlii</i> <i>Entamoeba polecki</i> <i>Naegleria fowleri</i>
Ciliophora	<i>Vestibuliferida</i>	<i>Balantidium coli</i>
Microspora	<i>Pleistophorida</i> <i>Nosematida</i>	<i>Encephalitozoon</i> sp <i>Pleistophora</i> sp <i>Nosema</i>

elasticidad y capacidad de deformación, o con los quistes de *Cryptosporidium* y esporos de *Microsporidios* debido a su pequeño tamaño.

Los alimentos de origen animal son frecuentemente portadores de estadios evolutivos de parásitos. Al ser ingeridas por el hombre o los animales crudas o insuficientemente cocidas pueden continuar con su evolución y causar enfermedad.

PROTOZOOS DEL PHYLUM APICOMPLEXA

TOXOPLASMA GONDII

Descripción: Es un agente parasitario patógeno que presenta alternativas biológicas. Su particular evolución permite que en una etapa se pueda hallar contaminando vegetales (el principal diseminador es el gato doméstico, quien los elimina con las heces), y en otra esté en

los tejidos animales. Desde ambos medios puede alcanzar al hombre produciendo a veces severas patologías.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

El estado de ooquiste es su forma de resistencia, la que puede permanecer en el medio ambiente viable por períodos prolongados e infectar a hospedadores intermediarios incluido el hombre y a felinos. En las carnes se encuentran quistes y seudoquistes que pueden infectar a otros hospedadores intermediarios o al hospedador definitivo.

Vía de infección

Para hospedadores intermediarios y definitivos la vía de infección es oral, aunque también pueden ingresar los taquizoítos presentes en las carnes por vía percutánea, aún sin solución de continuidad en la piel.

Enfermedad en el hombre

La enfermedad suele cursar de forma asintomática salvo en las personas inmunodeprimidas. Cuando la infección se produce por varios quistes aparece síntomas ligeros parecidos a la gripe, con fiebre baja y dolores musculares. La gravedad de la infección en el feto depende del mes del embarazo en que se produzca la primoinfección. Esta enfermedad puede llegar a producir malformaciones importantes e incluso aborto. El bebé puede nacer con retraso mental, ceguera y sordera.

Profilaxis alimentaria

Evitar la presencia de gatos en establecimientos hortícolas.

Evitar la presencia de gatos en establecimientos ganaderos.

Alimentar a los gatos con alimentos balanceados.

Es conveniente que las carnes permanezcan en cámaras frigoríficas antes de ser trasladadas al consumo y/o elaboración de chacinados. Las temperaturas indicadas son 3 días a -15 °C, 2 días a -20 °C lograda en el centro de la pieza de carne.

Cocinar bien la carne. Es necesario lograr 72 °C en el interior del alimento.

CRITOSPORIDIUM SP

Descripción: Es un agente parasitario patógeno de ciclo biológico directo, distintos animales y el hombre pueden eliminarlo con sus heces. Existen 10 especies reconocidas, identificadas por biología molecular, provenientes de distintas especies animales y capaces de parasitar al hombre. Este apicomplexa cobra importancia por su posibilidad de contaminar el agua de red debido a su pequeño tamaño y una elevada resistencia a la clorinación, ya que son necesarios 80 mg/l de cloro libre para destruir al ooquiste. Su condición de ser eliminado en su estadio infectante lo hace más importante epidemiológicamente.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

El estado de ooquiste es su forma de resistencia, la que puede permanecer en el medio ambiente viable por períodos prolongados.

Vía de infección

Es predominantemente oral

Enfermedad en el hombre

Los síntomas más comunes son diarrea líquida constante, dolores estomacales (calambres y retortijones), náuseas, vómitos, fatigas, flatulencia, pérdida de peso y apetito, estreñimiento, deshidratación y malestar general. A veces la diarrea y el dolor aparecen cada vez que se ingieren alimentos. El período de incubación se estima en 2 a 14 días. La gravedad y duración de la enfermedad es variable en las personas inmunodeprimidas. En las personas inmunocompetentes se autolimita en 1 o 2 semanas. Se puede experimentar un volumen diarreico elevado, pérdida de peso superior al 10% del peso corporal y dolor abdominal intenso que puede durar meses. En algunos casos se han descrito cuadros de Colecistitis

Profilaxis alimentaria

Evitar la presencia de animales en establecimientos hortícolas.

Evitar regar las huertas con aguas no potables.

No utilizar guano de animales como abono.

Realizar buena higiene de manos cuando se es manipulador de alimentos.

Revisar la integridad de las cañerías de agua, éstas pueden tener filtraciones.

CYCLOSPORA CAYETANENSIS

Descripción: Es un coccidio intestinal descrito recién en 1977, es productor de diarreas y de procesos extraintestinales en el hombre. Sus elementos de diseminación son ooquistes, miden entre 8-10 µm de diámetro, se lo considera uno de

los causales de diarrea del viajero. El reservorio de este parásito es el hombre, sin embargo el hallazgo de ooquistes similares en otras especies (primates y en aves de corral), hace suponer que la ciclosporiasis es una zoonosis. Se ha detectado ooquistes de *Cyclospora* en aguas residuales y cloradas, en vegetales y en las heces de pollos destinados al consumo humano.

La vía de infección es oral (ooquistes maduros) y la de diseminación es fecal (ooquistes inmaduros), por lo que los ooquistes no son infectantes al ser eliminados, necesitan un período de maduración en el medio, lo cual hace que la transmisión interhumana no exista a diferencia de la criptosporidiosis. La ciclosporiasis es considerada una EPTA.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Es el ooquiste que tiene la particularidad de que cuando está maduro presenta dos esporocistos con dos esporozoítos cada uno

Vía de infección

Es oral por ingestión de ooquistes esporulados.

Enfermedad en el hombre

Se la denomina coccidiosis del yeyuno. Puede cursar asintóticamente. En inmunocompetentes, la mayor prevalencia se presenta en niños con cuadros de astenia, anorexia, fiebre, diarrea acuosa, pérdida de peso, dolor abdominal, tenesmo rectal náuseas y meteorismo. En inmunosuprimidos adultos (SIDA), la sintomatología puede ser más intensa y grave.

Profilaxis alimentaria

Al igual que en otras parasitosis la profilaxis consiste en evitar la presencia de animales en establecimientos hortícolas.

Evitar regar las huertas con aguas no potables.

No utilizar guano de animales como abono.

Realizar buena higiene de manos cuando se es manipulador de alimentos.

Revisar la integridad de las cañerías.

ISOSPORA BELLI

Descripción: Es la única especie del género *Isospora* que parasita al hombre. Y es él el único hospedador susceptible por lo que los brotes que se han producido son debidos a un incorrecto manejo de las excretas. Es también un protozoo apicomplexa. La infección se ocasiona por ingestión de ooquistes maduros, que se encuentran contaminando agua y alimentos que se ingieren crudos o que han sido manipulados por portadores. El medio ambiente actúa como reservorio. Es una parasitosis poco frecuente, sin embargo puede hallarse en pacientes inmunodeprimidos. Se observa con más frecuencia en regiones de clima tropical o subtropical.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Es el ooquiste que una vez maduro presenta dos esporocistos con cuatro esporozoítos cada uno.

Vía de infección

Es oral por ingestión de ooquistes esporulados.

Enfermedad en el hombre

La parasitosis cursa con diarrea y dolores cólicos abdominales, a veces con esteatorrea y mala absorción con pérdida de peso y desnutrición progresiva.

Profilaxis alimentaria

Al igual que en otras parasitosis:

Evitar regar las huertas con aguas no potables.

No utilizar guano de animales como abono.

Realizar buena higiene de manos

cuando se es manipulador de alimentos.

Revisar la integridad de las cañerías.

SARCOCYSTIS SP

Descripción: Las especies del Género *Sarcocystis* incluyen protozoarios intracelulares de ciclo evolutivo indirecto basados en la relación presa-predador. Los estados asexuales se encuentran en los hospedadores intermediarios después de que ellos han ingerido esporocistos provenientes de heces de hospedadores definitivos y concluye con la formación de quistes intramusculares. El hombre actúa como hospedador definitivo de *Sarcocystis hominis* y de *Sarcocystis suihominis*, después de ingerir carnes infectadas de bovino y de cerdo respectivamente. Es hospedador intermediario de algunas especies de *Sarcocystis* de las cuales no se ha dilucidado el ciclo biológico. La prevalencia en humanos es baja. Esta parasitosis tiene importancia en la producción ganadera.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

En el suelo, vegetales y pasturas se encuentran los esporocistos del protozoario. En las carnes se hallan los cistozoítos dentro de quistes musculares.

Vía de infección

Es oral para hospedadores definitivos e intermediarios. Por ingestión de esporocistos que tienen la característica de ser infectantes al momento que son eliminados con las heces, y por ingestión de los quistes presentes en los músculos de los intermediarios.

Enfermedad en el hombre

Los síntomas en el hombre como hospedador definitivo de *Sarcocystis* son gastro entéricos, náuseas, pérdida de apetito, acidez gástrica, distensión abdominal, diarrea acuosa, y eosinofilia. En oportunidades se ha citado enteritis necrótica. En personas inmunocompe-

tentes la infección se autolimita. En el hombre, como hospedador intermediario, la localización es diversa, con presencia quistes musculares y síntomas de vasculitis y miositis asociadas con eosinofilia y linfadenopatías, brocospasmos y rash cutáneo.

Profilaxis alimentaria

Alimentar a los carnívoros con alimentos balanceados o carnes cocidas.

En el campo evitar que coman cadáveres, sería conveniente cocinar las carnes.

No utilizar guano de animales para abonar las quintas.

Congelar las carnes.

PROTOZOOS DEL PHYLUM EUGLENOZOA

TRYPANOSOMA CRUZI

Descripción: Es un protozoario hemático y tisular del hombre y varios mamíferos. Si bien no es frecuente la contaminación de alimentos por este protozoario, la vía digestiva es una forma de ingreso al hospedador muy eficaz para *Trypanosoma cruzi* al poseer una etapa en el medio ambiente, en las heces del triatomineo vector, se hace posible su ingreso por vía digestiva, así como permucosa.

Las descriptas han obedecido a alimentos contaminados por heces de triatomineos caídas directamente sobre los alimentos.

Se debe tener en cuenta además la probable contaminación por *T. cruzi* al faenar animales de caza, ya que pueden estar parasitados y el parásito desde las carnes puede ingresar por vía percutánea al desollarse las presas, o puede ingresar también por vía oral al ingerirlas insuficientemente cocidas.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Pueden hallarse los Tripomastigotes metacíclicos provenientes de heces de Triatomineos sobre cualquier tipo de

alimentos. Fue muy comentado el caso ocurrido en Santa Catarina, Brasil, en el año 2005 sobrevenida a partir de la ingesta de jugos vegetales. Pero esta situación se da obviamente todos los días en áreas endémicas de nuestro país. También pueden hallarse las formas tripomastigotas, también infectantes en las carnes de animales de caza.

Vía de infección

Las formas de ingreso al organismo relacionadas con los alimentos son oral, per mucosa y percutánea.

Enfermedad en el hombre

La enfermedad de Chagas-Mazza o Tripanosomiasis Americana puede presentarse en dos fases, aguda y crónica. Los síntomas de la fase aguda incluyen anemia, debilidad, desórdenes nerviosos, dolor muscular y óseo con grados variados de afección cardíaca y puede sobrevenir la muerte.

La enfermedad crónica es la resultante de disfunciones nerviosas centrales y periféricas durante algunos años. Algunos pacientes fallecen por insuficiencia cardíaca por ausencia de tono del músculo cardíaco por destrucción de los nervios. En la etapa crónica pueden presentarse también las megavísceras.

Profilaxis alimentaria

Higienizar correctamente los alimentos que han de consumirse crudos.

Cubrir los alimentos para que no puedan caer heces de insectos sobre ellos.

Utilizar guantes al desollar presas de caza.

Ingerir las carnes suficientemente cocidas.

PROTOZOOS DEL PHYLUM RETORTAMONADA

GIARDIA LAMBLIA

Descripción: Es un protozoo zoonó-

tico cosmopolita, de mayor incidencia en zonas tropicales y subtropicales. Su ciclo biológico es directo y las formas de presentación de la enfermedad son variadas. Las epidemias pueden ocurrir tanto en países desarrollados como en países en desarrollo donde los suministros de agua han sido contaminados con aguas no tratadas por filtraciones. Es un importante agente de la diarrea del viajero. Se considera que la ingestión de diez quistes origina ya una giardiasis sintomática.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Los quistes del protozoo, elementos de diseminación y resistencia son los que permanecen en los alimentos.

Vía de infección

Es exclusivamente oral por ingestión de quistes presentes en aguas y/o alimentos.

La enfermedad en el hombre

Existen tres formas de presentación.

Giardiosis aguda: caracterizada por diarreas malolientes y acuosas con heces que flotan en el agua. Mala absorción con esteatorrea y pérdida de peso, náuseas, vómitos, y distensión abdominal.

Giardiosis crónica: se presenta con períodos diarreicos con heces pastosas y espumosas, acompañados de flatulencia y meteorismo, alternados con períodos en los que las heces son normales. En algunos pacientes cursan con síndrome de mala absorción y las consecuencias clínicas que de él derivan.

Giardiosis asintomática: característica de zonas endémicas donde las reinfecciones son muy frecuentes. Tiene gran importancia epidemiológica y ocasionalmente puede derivar alguna de las otras formas de presentación.

Giardia lamblia jamás sale del intestino, sin embargo puede producir manifestaciones extraintestinales como: erupción máculo papular, urticaria, aftas,

poliartritis, colangitis, asma bronquial, iridociclitis, retinitis, alergias de origen alimentario, sinovitis, artritis. La presencia de *Giardia lamblia* en el intestino delgado, así como la eliminación de sus productos de excreción-secreción pueden alterar los principios farmacológicos de medicamentos que se consuman por vía oral y así no obtenerse el efecto esperado de aquellos: fallas de antibiòticoterapia por ejemplo.

Profilaxis alimentaria

No permitir el ingreso de animales a los establecimientos hortícolas.

No utilizar abono elaborado con guano de animales sin el correspondiente tratamiento.

No regar las huertas con aguas servidas.

Controlar las cañerías del agua de red, pueden tener filtraciones.

Aplicar vacunas preventivas a los caninos para evitar que enfermen y diseminan la parasitosis.

PROTOZOOS DEL PHYLUM CILIOPHORA

BALANTIDIUM COLI

Descripción: Es un protozoo ciliado de gran tamaño, primariamente parásito de cerdos que se adapta a otros hospedadores, entre ellos el hombre.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Balantidium coli es el único protozoo parásito capaz de enquistar en el ambiente, por lo cual los trofozoítos y quistes tienen idéntica importancia en la contaminación de alimentos y agua.

Vía de infección

La vía de infección es oral por medio de la ingestión de quistes.

Enfermedad en el hombre

Mediante su capacidad de secretar

enzimas proteolíticas y hialuronidasa, pueden producir úlceras en el intestino grueso de sus hospedadores, con infiltrados de polimorfonucleares, hemorragias y contaminación bacteriana secundaria, lo cual se traduce en una disentería balantidiana. Por contigüidad puede producirse infección en pulmones y otros órganos y ser mortal. Es frecuente la recuperación espontánea y entonces, animales y humanos, comportarse como portadores sanos.

Profilaxis alimentaria

No utilizar materia fecal de cerdos como fertilizante.

Controlar a los manipuladores de alimentos.

No utilizar aguas de origen dudoso para regar huertas.

Utilizar sólo agua de red en la higiene de equipos utilizados en la industria alimentaria.

Utilizar sólo agua de red en la elaboración de alimentos.

PROTOZOOS DEL PHYLUM SARCODINA ORDEN AMEBIDA

ENTAMOEBIA HISTOLYTICA/ DISPAR

Descripción: Amebas comensales: *Entamoeba coli*, *endolimax nana*, *Iodamoeba*.

Entamoeba histolytica / dispar es patógena e invasiva, el resto: *Entamoeba coli*, *Entamoeba polecki*, *Iodamoeba bustchli*, *Endolimax nana*, son consideradas comensales. Sin embargo, en ocasiones, especialmente en niños y ancianos, así como en individuos inmunológicamente deprimidos puede ocasionar diarreas.

Es importante reconocerlas porque su hallazgo representa contaminación fecal humana en el alimento estudiado.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Las formas de diseminación y resistencia del protozoo son los quistes.

Vía de infección

Los quistes deben ser ingeridos.

Enfermedad en el hombre

Entamoeba histolytica es considerada la tercer causal de muerte por enfermedad parasitaria en el mundo. Posee enzimas histolíticas que le otorgan un alto poder invasivo.

Existen distintas formas de presentación de la parasitosis:

Amebiasis aguda (disenteria amebiana): con trofozoítos invasivos que producen úlceras en la mucosa intestinal, llegando hasta la submucosa y a veces hasta la muscular de la mucosa y la serosa. Se produce eliminación de heces con moco, sangre y pus. En la materia fecal de estos pacientes se encuentran sólo trofozoítos, móviles, de movimientos unidireccionales y hematofagia. Esta forma grave, igualmente, puede remitir.

Amebiasis oligosintomática: con períodos de diarrea alternados con coprostasia y simultáneamente eliminación de heces que contiene trofozoítos y quistes respectivamente.

Amebiasis crónica (individuos portadores): sólo ocasionalmente tienen alteraciones digestivas, sin embargo poseen gran importancia en la diseminación de la enfermedad.

Amebiasis secundaria: se da por continuidad o contigüidad con otros órganos produciéndose en ellos lesiones secundarias como por ejemplo la necrosis colicuativa del hígado o la amebiasis pulmonar. También puede diseminarse por vía sanguínea a distancia y desarrollar amebiasis cerebral.

Profilaxis alimentaria

Control parasitológico de los manipuladores de alimentos.

No utilizar materia fecal humana ni

animal como abono.

Solo utilizar agua de red para el riego de las huertas.

Sólo utilizar agua de red para la higiene de equipos industriales.

Sólo utilizar agua de red para la elaboración de alimentos.

En áreas endémicas beber sólo aguas envasadas.

ORDEN SCHIZOPYRENIDA

Las amebas patógenas de vida libre, no son parásitas, son habitantes normales del suelo y agua pero probablemente en el curso de la evolución, y por el calentamiento global han ido adaptándose a temperaturas más próximas a la corporal y entonces a la vida parasitaria. En oportunidades pueden producir patologías en el hombre.

NAEGLERIA FOWLERI

Descripción: Es una ameba patógena de vida libre que posee en su evolución estadios que se desplazan mediante pseudópodos y otros que lo hacen mediante dos flagelos. Los casos de enfermedad hallados en el hombre han sido probablemente adquiridos por nadar en piletas de aguas termostalizadas o en aguas termales en pacientes con enfermedades inmunodepresivas concomitantes.

Naegleria fowleri ha sido aislada a partir de botellas de agua mineral por lo que se la incluye en el presente informe.

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Los quistes de *Naegleria fowleri* y otras amebas patógenas de vida libre pueden hallarse en alimentos y aguas minerales.

Vía de infección

Pueden ingresar por vía nasal

Enfermedad en el hombre

Se denomina Meningoencefalitis amebiana primaria. Es aguda y fulminante. Después de su ingreso por el tracto

nasal, los trofozoítos migran a lo largo del nervio olfativo, láminas cribadas del etmoides y cráneo. La destrucción del parénquima cerebral es rápida.

Profilaxis alimentaria

Control parasitológico de aguas minerales

Utilización de agua de red

PROTOZOOS DEL PHYLUM MICROSPORA

Los microsporidios son parásitos intracelulares. Han sido hallados en algunos casos como hiperparásitos, por lo cual algunos autores los han propuesto como útiles para realizar control biológico de plagas. Distintos géneros han sido hallados en humanos inmuno deprimidos, algunos son zoonóticos. Los microsporidios son parásitos oportunistas y actualmente se desconoce su importancia en personas inmuno competentes.

Los Géneros *Pleistophora*, *Nosema*, *Enterocytozoon* han sido descritos en humanos

Estadios que pueden hallarse en los alimentos

Son los esporos que son formas de resistencia.

Vía de infección

Es fecal-oral para las formas gastroentéricas.

Enfermedad en el hombre

Por lo general producen afecciones gastroentéricas, con diarreas en individuos inmuno comprometidos. También se describen infecciones del tracto respiratorio, urogenital y del globo ocular.

Profilaxis alimentaria

Utilización de agua de red

Control parasitológico con técnicas específicas para el diagnóstico de microsporidios, especialmente en manipuladores de alimento inmunodeficientes.

BIBLIOGRAFÍA

Caccio SM. New methods for the diagnostic of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Parassitologia*. 2004. 46(1-2): 151-5.

Dawson D. Foodborne Protozoan Parasites. *International Journal of Food Microbiology* 2005. 103 (2): 207-227.

Diaz Cinco ME, Leyva Michel EE, Mata Haro V, Gonzalez Rios H. Incidencia y viabilidad de *Cryptosporidium parvum* en el agua potable de Ciudad Obregón, sonora, Mexico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 2003. 19 (2): 67-72.

Doligalska M, Donskow K. Environmental contamination with helminth infective stages implicated in water and foodborne diseases. *Acta Microbiol Pol*. 2003. suppl 52:45-6.

Dubey JP. A review of *Sarcocystis* of domestic animals and of other coccidia of cats and dogs. *J Amm Vet Med Assoc* 1976. 169 (10): 1061-78.

Gajadhar AA, Scandrett WB, Forbes LB. Parásitos zoonóticos transmitidos por los alimentos y el agua en las granjas. *Rev sci tech Off int Epiz* 2006. 25 (2): 603-604.

Gómez D'Angelo YT, González González MI, Chiroles Rubalcaba S. Microorganismos presentes en el composta. Importancia de su control sanitario. *Revista electrónica de la agencia de medio ambiente*. 2004. 4 (7). Gomez Vital MN, Orihuela de la Cal JL, Orihuela de la Cal ME, Fernandez Cardenas N. Parasitismo intestinal en manipuladores de alimentos. *Rev Cubana Med Gen Integr* 1999,15 (5): 520-523.

Lee MB. Everyday and exotic foodborne parasites. *Can J Infect Dis*. 2000. 11(3): 155-158.

Macpherson CN. Human behaviour and the epidemiology of parasites zoonoses. *Int J Parasitol*. 2005. 35 (11-12): 1319-31.

Schmidt GD, Roberts LS. *Foundation of Parasitology*. Sixth edition. United State of America. 2000. 670

Ramirez Olivencia G, Herrero MD, Subirats M, Rivas Gonzalez P, Puente S. Brote de *Cyclospora cayetansensis* en viajeros a Cuba. *Enferm Infecc y Microbiol Clin*. 2008. 26: 558-560.

Rooney RM, Cramer EH, Mantha S, Nichols G, Bartram J, Farber JM, Benenbarek PK. A review of outbreaks of foodborne disease associated with passenger ships: evidence for risk management. *Public Health Rep*. 2004. 119 (4): 427-434.

Slifko TR, Smith HV, Rose JB. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *Int J Parasitol*. 2000. 30 (12-13): 1379-1393.

Smith HV, Caccio SM, Cook N, Nichols RA, Tait A. *Cryptosporidium* y *Giardia* as foodborne zoonoses. *Vet Parasitol*. 2007. 149 (1-2): 29-40.

ENTEROBACTERIACEAE EN ALIMENTOS

Bact. Dr. Oscar R Linzitto y Bact. Tunes María del Luján

Cátedra de Microbiología Especial. Carrera de Microbiología Clínica e Industrial. FCV. UNLP

Las enfermedades entéricas generan un problema de Salud Pública en Argentina donde aún se reportan altos índices de morbi-mortalidad principalmente en la población infantil. La mayoría de estos eventos están relacionados con saneamiento ambiental deficiente, hábitos higiénicos inadecuados y contaminación de los alimentos. Se pueden realizar importantes aportes dentro de sus diversos campos de acción entre ellos los aspectos de urbanización estratégica con la provisión de agua potable y cloacas, sumados a la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), inocuidad de alimentos, saneamiento del medio y educación para la salud.

Los diversos agentes bacterianos implicados en los cuadros diarreicos en humanos, surgen en gran parte de la contaminación de los alimentos y entre ellos la propia agua. Las enterobacterias son microorganismos que resaltan por su participación en los episodios diarreicos y son los más frecuentes en los procesos de enfermedades transmitidas por los alimentos. En este capítulo se detallará genéricamente algunas características de los géneros más importantes de Enterobacterias incriminados en cuadros entéricos de origen alimentario.

Las enterobacterias corresponden a un grupo importante de microorganismos ubicados taxonómicamente dentro de las proteobacterias gamma y familia Enterobacteriaceae. Son coco-bacilos o bacilos, no producen esporas, móviles o inmóviles, capsuladas y no capsuladas, Gram negativos, metabólicamente aerobios o anaerobios facultativos, capaces de fermentar la glucosa con producción ácidos y/o gas, reducen los nitratos a nitritos y dan la reacción de oxidasa negativa. Su hábitat está en el suelo, agua y vegetales, suelen formar parte de la microbiota del intestino de animales domésticos, silvestres y humanos. Dentro de la familia Enterobacteriaceae, están divididos en grupos o tribus por sus características bioquímicas. Actualmente según la última versión del Manual Bergey's se encuentran 44 géneros y 175 especies. Dentro de las cuales una veintena son patógenas. Los géneros y especies más importante involucradas en los procesos patológicos entéricos relacionados a contaminación alimenticia son diversos patotipos de *Escherichia coli* (ECEI, ECEP, ECEH, ECEI, ECED, ECHT y particularmente la cepa 0157:H7 asociado al Síndrome Urémico Hemolítico), *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* y otras *Salmonellas*, *Shigella* spp, *Achromobacter sakazaki*, *Yersinia enterocolitica*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y otras.

Las enterobacterias son responsables de la mayoría de las gastroenteritis agudas y del 30-35% de las bacteriemias y del 70-75% de las infecciones urinarias en humanos. Además producen diversos síndromes patológicos en animales domésticos y salvajes.

El nivel de enterobacterias en los alimentos es un buen indicador de la calidad microbiana del alimento y provee información relevante respecto a la seguridad alimentaria.

EL DIAGNÓSTICO DE LA LEPTOSPIROSIS

Prof. Dr. Bact. Nestor O. Stanchi

Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata - Universidad Católica de Cuyo-San Luis
nestorstanchi@yahoo.com.ar

El diagnóstico de la leptospirosis, tanto para la clínica humana como animal, continúa realizándose con la técnica descrita por Martín y Pettit en 1918, denominado Test de Aglutinación Microscópica (*Microscopic agglutination test* o MAT) método que se considera de referencia para la investigación de esta zoonosis.

El diagnóstico basado en el aislamiento del microorganismo es, sin lugar a duda, la irrefutable evidencia de infección en humanos. El hallazgo de leptospiras en muestras de animales está indicando infección, pero debido a los largos períodos de eliminación de esta bacteria, debe llevarse a cabo un estudio de signología clínica, que correlacione los hallazgos de laboratorio con la clínica y epidemiología. El cultivo de leptospiras, debido a que el microorganismo tiene un tiempo de duplicación cercano a las 7 horas, hace necesario incubar el mismo por no menos de 2 meses (incluso hay laboratorios que lo hacen hasta 6 meses). Este tiempo es por demás excesivo para un diagnóstico clínico aunque sí es útil para el estudio epidemiológico. De allí es que la serología tiene un importante valor diagnóstico.

En la búsqueda de bibliografía se encuentran numerosas pruebas que, de una u otra manera, intentan reemplazar o al menos complementar a la mencionada MAT. Algunas continúan utilizándose hoy día como un método alternativo de diagnóstico, pero la confirmación serológica sólo es posible mediante MAT.

Entre las pruebas que actualmente siguen utilizándose es la basada en una aglutinación macroscópica que utiliza un antígeno termo resistente proveniente de una cepa de leptospira no patógena (*L. biflexa*), conocido como antígeno TR. Esta prueba ha demostrado una alta correlación con sueros de origen humano, aunque es pobre su eficacia en sueros animales, con la salvedad que podría utilizarse en caninos. La prueba consiste en enfrentar sobre un portaobjetos o lámina de vidrio el suero del paciente con el antígeno TR y luego de una agitación, se realiza la lectura del mismo en búsqueda de aglutinación. Para aquellos laboratoristas habituados al diagnóstico por medio de pruebas serológicas aglutinantes, los “grumos” que se producen en la reacción de TR suelen ser más débiles o pequeños para identificar los sueros reactivos. La reactividad debe comprobarse mediante MAT para arribar al diagnóstico.

Otra prueba que está teniendo cada vez más adeptos es el ELISA, esto es debido a su practicidad, a la necesidad de laboratorios de mediana complejidad, a la posibilidad de encontrar reactivos comerciales, e incluso a la posibilidad de diferenciar isotipos de anticuerpos (IgG e IgM) que le dan a esta técnica un valor apreciable. Además tiene la capacidad de detectar anticuerpos en el paciente unos días antes que la prueba de MAT. El test sólo detecta anticuerpos género específico y no sirve la identificación de serovar o serogrupo de leptospiras.

En el diagnóstico de la leptospirosis en canino, se ha incorporado una técnica que utiliza el inmuno oro para la rápida detección de esta enfermedad (Lepto Dip-Stick), pudiendo ser utilizado como diagnóstico presuntivo.

Como se mencionó al principio, otras técnicas diagnósticas se han desarrollado,

y su uso no está extendido, entre ellas se pueden mencionar: Fijación de complemento, contrainmunolectroforesis, leptotek lateral flow, dried latex agglutination test (una placa de cartón con antígeno disecado), inmuno fluorescencia indirecta, test de aglutinación del látex, test de aglutinación macroscópica, test de aglutinación en microcápsula, test de eritrocitos sensibilizados, entre otras.

Indudablemente la técnica de Aglutinación Microscópica es la que permite el diagnóstico serológico de la enfermedad. No describiré aquí la técnica que puede encontrarse en detalle en la web en el sitio de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), pero sí nombrar algunas de las causales de diferencia de resultados entre laboratorios, que suele ser una de las dudas más frecuentes entre los profesionales. Al respecto debo mencionar que la técnica a pesar de su estandarización, no deja de ser una técnica subjetiva, y esto es uno de los factores por la cual la OMS recomienda realizar una serología pareada (10 a 15 días de intervalo) realizadas en el *mismo laboratorio*. Entre los factores que pueden modificar la técnica de MAT se incluyen:

Origen de las cepas utilizadas como antígenos (aislamientos locales, cepas de referencia internacional).

Cepa: incluso dentro de un serogrupo se pueden utilizar distintas cepas, ejemplo. *L. interrogans* sv. *Icterohaemorrhagiae* cepa RGA o Winjberg.

Medio de cultivo empleado, se recomienda el EMJH pero puede ser realizado con Stuart u otro (la composición iónica varía).

Tiempo de incubación se puede hacer entre 1 a 4 horas.

Temperatura de incubación, es aceptable a temperatura de 28 °C, aunque también se puede a 37 °C (consideremos que los distintos isotipos de inmunoglobulinas tienen distinta temperatura óptima de reacción).

Dilución del suero en Solución fisiológica o en PBS (estabilidad del pH).

Lectura en fondo oscuro seco o húmedo.

Lectura “macro método” o “micro método” (en lugar de colocar una gota de la prueba en el microscopio, se coloca la microplaca completa en el microscopio de fondo oscuro).

Tiempo de cultivo de la cepa (aceptado de 7 días).

Estado de la cepa (con o sin autoaglutinaciones) o contaminaciones (debe verificarse siempre por fondo oscuro).

Densidad del cultivo.

Conservación del suero (congelado/descongelado), contaminado, hemolizado, etc.

Estado “anímico” del observador

Por el momento debemos continuar utilizando esta técnica de MAT que, a pesar de sus variados aspectos negativos, nos proporciona una única técnica para evaluar sueros de humanos y animales. Recomendando el empleo del ELISA como técnica complementaria y rápida para los laboratorios que no puedan realizar la técnica de MAT como patrón.



Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes

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 numerarse 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 Word. Los documentos gráficos deben enviarse en Corel Draw, TIF (TIFF) o JPG 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 nestorstanchi@yahoo.com.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.