

Estudios sobre la diarrea de la infancia en la ciudad de Posadas, Misiones, Argentina

MARTA VERGARA
(Coordinadora)



EDITORIAL UNIVERSITARIA

ESTUDIOS SOBRE LA DIARREA DE LA
INFANCIA EN LA CIUDAD DE POSADAS,
MISIONES, ARGENTINA.

marta vergara
marina quiroga
(compiladoras)

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

San Luis 1870, Posadas, Misiones
Tel-Fax: (03752) 428601

Correos electrónicos:

direccion@editorialunam.com.ar
produccion@editorialunam.com.ar
diagramacion@editorialunam.com.ar
administracion@editorialunam.com.ar
ventas@editorialunam.com.ar

Página WEB:

www.editorial.unam.edu.ar

Coordinación de la edición: Claudio O. Zalazar
Armado de interiores y tapa: Francisco A. Sánchez

Vergara, Marta

Estudios sobre la diarrea de la infancia en la ciudad de
Posadas, Misiones, Argentina. - 1a ed. - Posadas : EDUNAM -
Editorial Universitaria de la Universidad Nacional de Misiones,
2011.

Internet.

ISBN 978-950-579-201-6

1. Pediatría . 2. Diarrea Infantil. I. Título.
CDD 618.92

Fecha de catalogación: 30/05/2011

Hecho el depósito de la ley 11723

ISBN: 978-950-579-201-6

Editorial Universitaria

Universidad Nacional de Misiones, Posadas, 2011.

Todos los derechos reservados para la primera edición.

ESTUDIOS SOBRE LA DIARREA DE LA
INFANCIA EN LA CIUDAD DE POSADAS,
MISIONES, ARGENTINA.

marta vergara
marina quiroga
(compiladoras)

EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Agradecimiento especial a:

*Eduardo Pegel, Patricia Oviedo (Docentes-
investigadores integrantes de la Cátedra).*

*Y a Norma Binsztein (Instituto Nacional de
Microbiología “Carlos Malbrán”) que impulsara
este Proyecto.*

Índice

Introduccion al tema	9
La patogenia	11
Los enteropatogenos.....	17
Escherichia coli	17
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica (ECET).....	17
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	19
<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (ECEH)	20
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena (ECEP).....	21
<i>Escherichia coli</i> enteroadherente (ECEA).....	24
<i>Shigella</i>	25
<i>Salmonella</i>	27
<i>Campylobacter</i>	30
La enfermedad diarreica en Misiones.....	37
Los estudios realizados.....	38
La producción científica	43
Frecuencia y distribución de enteropatogenos	45
Factores de virulencia	99
Factores de riesgo	125
Susceptibilidad antimicrobiana	145
Acción de antimicrobianos sobre factores de virulencia	185

INTRODUCCION AL TEMA

La diarrea aguda infecciosa constituye uno de los problemas de salud más importantes en América Latina y el Caribe, en especial en aquellos pacientes de edad pediátrica y es una de las enfermedades más asociadas a la pobreza; tanto es así que el subdesarrollo participa como otro agente etiológico además de los microbianos.

Cada episodio diarreico que recidiva compromete el estado nutricional de los niños, predisponiéndolos a otro tipo de infecciones, además de incidir fundamentalmente en las altas tasas de morbilidad en nuestra región.

Hacia 1989 la OMS estimó que entre los 57 millones de niños menores de 5 años de Latinoamérica, se produjeron 223 millones de episodios de diarrea.

En nuestro país el número total de episodios en el mismo período fue de 9,7 millones para una población de 3,2 millones de niños menores de 5 años.

Otro impacto es el de la mortalidad por diarrea.

La estimación de 6 millones de muertes en el periodo 1965-1990 es la más clara expresión numérica del grave problema que significa la diarrea en América Latina y el Caribe.

Casi 5 millones de esas muertes por diarrea ocurrieron en niños menores de 5 años, lo que representa un 80% de las defunciones por infecciones intestinales en

todas las edades para América Latina y el Caribe. Porcentaje que en la Argentina fue del 89%.

La provincia de Misiones notificó para el período 1990 una tasa de morbilidad del 33,6% en niños menores de 2 años. Esta situación está agravada debido a que amplios sectores de la población carecen de condiciones sanitarias como potabilidad de agua de consumo, tratamiento de excretas y residuos, lo que determina una alta contaminación feco-oral.

De hecho que la influencia que los factores socio-económicos, culturales, higiénicos, sanitarios y nutricionales ejercen sobre la morbi-mortalidad por diarrea, es notoria.

La diarrea testimonia la realidad socio-económica de una región y toda acción que se realice para erradicarla tiene que ver con las modificaciones de las condiciones de vida de sus habitantes.

Ya está demostrado que bajo deficientes condiciones de sanitación aumentan los portadores y las dosis infecciosas, y esta situación se refleja en un mayor riesgo para la población más susceptible, que son los niños y los visitantes temporarios de países en mejores condiciones de sanitación.

Hasta hace dos décadas prevalecía el concepto, fundamentalmente entre los nutricionistas, de que buena parte de las enfermedades diarreicas estaban regidas por factores nutricionales; esto estaba basado además en el hecho de que existía una buena asociación entre diarrea y desnutrición en países en vías de desarrollo.

Sumado a ello, la falta o la escasez de metodología para demostrar etiología infecciosa en la gran mayoría de los cuadros, dejaba una buena cantidad de casos de enfermedades diarreicas sin diagnóstico de laboratorio.

El desarrollo y el avance tecnológico de los últimos años ha permitido demostrar la participación de gran número de agentes etiológicos, clarificar sus mecanismos patogénicos para entender mejor la génesis de la enfermedad, sus importantes aspectos epidemiológicos. Todo ello se explotó para diseñar estrategias para la profilaxis, control y prevención de este importante problema sanitario.

La influencia de un ambiente ampliamente contaminado (un factor importante en la enfermedad diarreica es la contaminación microbiológica del ambiente, lo que determina la existencia de infecciones y reinfecciones en situaciones de

pobreza) prolonga significativamente la duración y la frecuencia de estos episodios.

De esta manera se determina una enfermedad que con una severa clínica implica muchas veces la hospitalización, aumentando el daño al niño y el gasto en salud.

La transmisión de la contaminación, para diversos patógenos entéricos, sigue la ruta desde el agua a las personas o del agua a los alimentos y de allí a las personas.

La patogenicia

Para que el patógeno entérico pueda iniciar el desarrollo de la enfermedad, es necesario que no sólo resista a la eliminación mecánica del huésped sino que la bacteria se asocie a la mucosa intestinal, lo cual facilitará la colonización.

Esta asociación de los gérmenes a la mucosa intestinal está ampliamente facilitada por otro proceso, que se denomina quimiotactismo y adherencia. Por el quimiotactismo la bacteria se acerca y penetra en el glicocáliz de la célula intestinal. Ayuda a que este proceso se cumpla, la respuesta bacteriana al estímulo quimiotáctico que son sustancias que funcionan como nutrientes bacterianos, aminoácidos y azúcares que además atraen a los gérmenes.

Receptores quimiotácticos existen en la superficie bacteriana, que si pudieran ser bloqueados se inhibirá la adherencia.

Otro importante aporte lo constituye la motilidad bacteriana.

El mecanismo de patogenicidad es un proceso complejo que involucra varias características de un microorganismo y su relación con la célula del huésped, en general adherencia, asociación, motilidad, quimiotaxis, producción de enzimas, entre otras.

La afectación de algunos de ellos, afectaría también la virulencia.

Por ello la capacidad de muchos patógenos entéricos para producir enfermedad no va a depender únicamente de la capacidad que el organismo tenga de penetrar en la mucosa y producir enterotoxinas o citotoxinas, sino de la habilidad que tenga de adherirse primero a la mucosa y colonizarla.

La adherencia que posibilita a la bacteria resistir los mecanismos del barrido y limpieza que protegen a las superficies epiteliales, determina además el sitio de infección microbiana, facilitando la interacción específica superficie-superficie entre la bacteria y el epitelio del huésped.

Una vez que la bacteria ha penetrado en el glicocálix se inicia el paso siguiente que es la adhesión, que está mediada por factores específicos llamados fimbrias o pilis que son componentes o estructuras de la superficie bacteriana.

También influyen otros factores no específicos que son fuerzas hidrofóbicas e interacciones de carga.

Es importante destacar que la capacidad de adherirse a superficies sólidas que tienen estos gérmenes es una capacidad bacteriana que tiene un profundo significado ecológico, ya que por ella los gérmenes pueden contactar con sustratos, especialmente en aquellos ambientes en que los nutrientes son escasos.

Estructuras superficiales que emergen de la superficie bacteriana, adhesinas, pilis o fimbrias, antígenos de superficie, mucopolisacáridos o ácidos lipoteicoicos, entre otras, a las cuales en general se las denomina adhesinas bacterianas, son empleadas como medio de adherencia, y en general estas estructuras o adhesinas presentan un alto grado de especificidad de sustrato. Estas adhesinas se combinan estereoespecíficamente con macromoléculas, y en humanos la combinación se efectúa con macromoléculas: polisacáridos, glucolípidos que son receptores del huésped ubicados en sus superficies celulares.

Estas adhesinas, son apéndices filamentosos proteicos con un alto contenido de aminoácidos hidrófobos y sin relación estructural, funcional o morfológica con los flagelos y son prácticamente exclusivas de las bacterias gramnegativas, (excepción de algunas grampositivas) tanto ambientales como saprofíticas o patógenas y no son de ninguna manera elementos permanentes.

Escherichia coli ejemplifica la adhesión o fijación mediada por fimbrias o pilis y pueden presentarlas de distintos tipos: las fimbrias llamadas comunes, las de colonización entérica, que se dan fundamentalmente en las cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET) productores de toxinas termolábil (LT) y termoestable (ST) y las fimbrias P de *Escherichia coli* uropatógenas.

En las cepas de ECET, la presencia de pilis o fimbrias que interaccionan con las células epiteliales, son de naturaleza proteica y se las denominan factores de colonización (CFA), antígenos de superficie o antígenos de adherencia y su bio-

síntesis es plásmido dependiente. Si se pierde el plásmido respectivo, lo que puede darse en el laboratorio debido a frecuentes repiques, no se sintetiza el antígeno de adherencia, y en consecuencia esta cepa no puede colonizar y como consecuencia de ello no puede inducir la enfermedad diarreica.

La función fundamental de estas fimbrias o adhesinas es promover la fijación de la bacteria a la mucosa intestinal.

Estas adhesinas, dado el pequeño tamaño, no están sometidas a fuerzas de repulsión en la misma escala que el microorganismo y pueden actuar de puente entre el germen y el sustrato, es decir que la adherencia de estas cepas también depende de la interacción entre los factores de colonización y receptores existentes en la mucosa intestinal.

Muchos receptores para estas adhesinas están en la superficie de los eritrocitos.

Tienen además configuraciones complementarias de la de los receptores celulares, que le facilitan combinarse de forma estereoespecífica formando una gran cantidad de enlaces independientes que aumentan la naturaleza de las uniones.

Estos receptores de la mucosa intestinal son específicos para cada factor de colonización, y probablemente determinen el grado de virulencia específico de las ECET.

Además las bacterias adherentes parecen ser menos sensibles a la acción antimicrobiana de los antibióticos y a los sistemas naturales de defensa del huésped, como la actividad bactericida del suero y la fagocitosis.

Estas bacterias se adhieren al glóbulo rojo y producen hemaglutinación, que puede ser interrumpida por el agregado de azúcares que imitan al verdadero receptor y, al competir, inhiben la aglutinación como es el caso de la D-manosa, por ejemplo.

Según el comportamiento que tengan frente a la manosa las cepas se clasifican en manosa sensible o manosa resistente, o sea según resista o no la aglutinación en presencia de manosa.

Dado que estas fimbrias determinan la especificidad del huésped, reciben diversas denominaciones de acuerdo a su origen, ya que son antigénicamente diferentes como K88 en *Escherichia coli* aislado de porcinos, K99 en bovinos, CFA/I, CFA/II y CFA/IV en humanos.

En ECET los mejores caracterizados son CFA/I, CFA/II, CFA/IV, entre otros. CFA/I es un antígeno fimbrial simple, mientras que CFA/II y CFA/IV son antígenos complejos.

Las cepas que expresan CFA/II poseen una combinación de antígenos asociados a la superficie de *Escherichia coli* (CS), CS1/CS2; CS2/ CS3 o CS3 solo.

La composición de CFA/IV (PCF-8775) puede ser CS4/ CS6 o bien CS5/CS6 o bien CS6 solo.

Todas estas estructuras le confieren a la bacteria mayor hidrofobicidad siendo ésta mayor cuanto mayor sea la cantidad de pilis que tiene el microorganismo.

El método utilizado para detectar la presencia de estos factores de colonización es el Salting out o precipitación con sales de Sulfato de amonio que se basa en esta propiedad (hidrofobicidad).

Cuanto mayor sea la hidrofobicidad de la cepa menor será la cantidad necesaria de sales para provocar la precipitación indicando un alto número de pilis presentes y una mayor capacidad de adherirse al enterocito.

Para la identificación de los CFA, se emplean además técnicas de aglutinación, inmunodifusión y/o dot-blott usando anticuerpos monoclonales o anticuerpos policlonales.

Una vez que la bacteria logró fijarse y adherirse, puede iniciar el desarrollo de su acción patógena por contacto celular o desde allí elaborar toxinas que dañarán células cercanas.

La fijación, representa nada más que el establecimiento de una cabecera de playa desde la cual puede iniciarse la penetración hística o bien la invasión celular.

Los mecanismos patogénicos de las bacterias involucradas en los procesos diarreicos se pueden agrupar esquemáticamente en dos grandes grupos: los mecanismos invasivos y los toxigénicos de acuerdo a la interacción primaria que establecen en la membrana celular del enterocito.

También se da otro tipo de mecanismo, combinando ambos, invasivos y toxigénicos y últimamente el panorama se tornó más complejo con la descripción de un cuarto mecanismo que no es toxigénico ni invasivo, como es el caso de algunos

modelos de patogenicidad que se ve en algunas cepas de *Escherichia coli* enteropatógenas (ECEP).

La iniciación de la infección en los microorganismos que utilizan el primero de estos mecanismos, el invasivo, está caracterizado, luego de la asociación-adherencia, con un primer paso que es el de la penetración en la línea epitelial del intestino delgado.

Se trata de un proceso de fagocitosis en el que el agente infeccioso da el estímulo que inicia la actividad de membrana. Para el establecimiento de la lesión entérica aguda es esencial que la multiplicación de los microorganismos ocurra dentro de la mucosa intestinal, lo que causa daño en la línea epitelial con una severa respuesta inflamatoria con producción de polimorfonucleares en heces.

En el caso de *Salmonella* y algunos *Escherichia coli* que desarrollan gastroenteritis, la multiplicación bacteriana se realiza en la lámina propia, no hay destrucción extensiva de la mucosa.

En el caso de *Shigella* y algunos *Escherichia coli* de mecanismo semejante a *Shigella*, la multiplicación es intraepitelial, rara vez se los encuentra en sangre, produciendo sí un importante efecto deletéreo sobre todo en el epitelio colónico, dando la característica colitis disintérica con deposiciones mucosanguinolentas.

Estas diferencias del grado de destrucción del epitelio se las caracteriza con el Test de Sereny o queratoconjuntivitis, siendo positivo el test de Sereny en *Shigella* y *Escherichia coli* enteroinvasivo (ECEI), debido a la habilidad de producir ulceraciones en el epitelio de la córnea de cobayo o conejo. Para *Salmonella* y otros *Escherichia coli* la prueba es negativa.

La secreción de fluidos, en los mecanismos invasivos, se debe a un deterioro de la función absortiva y a un aumento en el transporte de agua y electrolitos a través de la mucosa dañada.

En el caso de *Salmonella* muchas de las anormalidades en el transporte de fluidos se cree que se deben a un aumento en la concentración de AMPc (3'-5' adenosina monofosfato cíclico), estimulado por la síntesis y liberación local de prostaglandinas en respuesta a la reacción inflamatoria.

Últimamente se ha exacerbado el interés por las enterotoxinas bacterianas en la patogénesis de las enteritis. Se trata de exotoxinas y tienen su acción sobre el

intestino. Son proteínas secretadas por las bacterias en crecimiento con un pico máximo a las 18 hs. de cultivo.

Entre estas proteínas, una de las primeras y más estudiada, fue identificada en la década del '60 aislada en *Vibrio cholerae*. El mejor conocimiento de la patogénesis del cólera facilitó el estudio de otro tipo de microorganismos como es el caso de *Escherichia coli* diarrogénico asociado a diversos cuadros de enfermedad diarreica.

Hasta el momento son cinco las categorías de *Escherichia coli* diarrogénicos que se diferencian según el mecanismo fisiopatogénico para causar diarrea: *Escherichia coli* enterotoxigénicas o ECET principal causa de diarrea del viajero y la diarrea de la niñez en las zonas en vías de desarrollo, *Escherichia coli* enteroinvasiva o ECEI productora de disentería, *Escherichia coli* enteropatógena o ECEP, *Escherichia coli* enterohemorrágica, ECEH, asociada a la colitis hemorrágica y al Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) y *Escherichia coli* enteroadherente o ECEA.

LOS ENTEROPATOGENOS

Escherichia coli

Escherichia coli enterotoxigénica (ECET)

Las cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas se descubren al final de la década del '60 y en el '70 se las asocia con la diarrea en el hombre.

Además de sus estructuras especiales llamadas fimbrias o estructuras de colonización, ya comentadas, estas cepas producen enterotoxinas, una termolábil (LT) y una termoestable (ST), cuya producción está codificada por plásmidos. La toxina LT está relacionada inmunológicamente con la toxina colérica y en especial causa diarrea secretoria.

Por manipulaciones genéticas se ha demostrado que la producción de enterotoxinas solas, no es suficiente para que el microorganismo desarrolle su acción patógena, sino que requiere la presencia de adhesinas o factores de colonización que lo fijen al enterocito de manera que la toxina pueda llegar con facilidad a los tejidos.

En la patogénesis de esta enfermedad los microorganismos que adhieren a la superficie del intestino delgado a través de sus factores de colonización o fimbrias o antígenos de adherencia, se multiplican y se realiza la síntesis y liberación de enterotoxinas que van a unirse a receptores específicos de la membrana luminal de las células epiteliales identificados como monosialosil gangliósido (GM1).

Esta unión con este receptor da la señal para la activación de enzimas cíclicas, en especial la adenilciclase ubicada en la membrana luminal del enterocito que induce a través de una serie de transformaciones enzimáticas un aumento de AMP cíclico intracelular.

Estas enterotoxinas tienen un efecto directo sobre la mucosa intestinal, produciendo una neta secreción hídrica que comienza con la división de la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en nicotinamida (NA) y en Adenosin difosforibosa (ADPR). Este se une a un receptor proteico de la membrana plasmática, la Guanosin trifosfatasa (GTP) inactivándola respecto de su normal función de impedir la activación de la adenilciclase permitiendo así que la mencionada enzima aumente los niveles intracelulares de 3'-5' adenosin monofosfato cíclico (AMP cíclico) causando un rápido y sostenido incremento de la diferencia de potencial eléctrico entre la célula y la luz intestinal, con el consiguiente movimiento anormal de electrolitos y agua, el que será diferente según se trate de células crípticas en donde se produce secreción de cloro, o en las células velocitarias en donde hay falta de absorción de cloro acoplado al sodio.

El aumento de AMP cíclico, inhibe la absorción de cloruro de sodio y aumenta la secreción aniónica. El hecho de que el AMP cíclico no interfiere en el mecanismo de absorción del ión sodio acoplado al transporte de aminoácidos y azúcares, es el fundamento de la rehidratación oral como base para los tratamientos de esta diarrea producida por este mecanismo enterotoxigénico.

La ausencia de daño de la mucosa intestinal (epitelio intacto), de invasión y de reacción inflamatoria es lo que se observa. La diarrea es hipersecretoria con gran pérdida de agua y electrolitos y con una función absorbente normal.

La toxina LT es una proteína con peso molecular de alrededor de 90000 Dalton y su molécula comprende dos componentes denominados A y B, donde A representa la parte activa de la molécula y B es el responsable de la fijación a la célula del huésped.

Tanto en su estructura química como en sus características inmunológicas y sus mecanismos de acción, es muy semejante a la enterotoxina colérica.

La toxina ST tiene un bajo peso molecular, alrededor de 2000 Dalton y es muy diferente a la toxina termolábil o LT, tanto en su estructura como en sus funciones, no está relacionada con la toxina de *Vibrio cholerae* e induce una respuesta secretante rápida y de corta duración.

El diagnóstico bacteriológico de las infecciones por *Escherichia coli* enterotoxigénicos se realiza por cultivo de heces.

Los medios utilizados son los medios convencionales de laboratorio para la búsqueda de enteropatógenos y se trabaja seleccionando 5 a 10 colonias fermentadoras de lactosa. A partir de las colonias identificadas como *Escherichia coli*, la detección de las enterotoxinas se realiza mediante ELISA para LT y para ST, que es la técnica más usada.

Escherichia coli enteroinvasiva (ECEI)

Escherichia coli enteroinvasiva tiene un comportamiento similar a *Shigella* y, como *Shigella*, tiene un plásmido de invasión que produce disentería por el mismo mecanismo.

Su adherencia a la célula epitelial de la mucosa intestinal se realiza, probablemente, por proteínas de membrana externa que funcionan como adhesinas.

Produce diarrea aguda en niños de bajo nivel socio económico y sanitación.

ECEI requiere un inóculo 1000 veces mayor que *Shigella*, para causar enfermedad y produce diarrea, con fiebre, severa inflamación, sangre y mucus en heces.

Ambas bacterias producen enfermedad luego de invadir la mucosa intestinal por mecanismos semejantes, como se comenta en detalle en *Shigella*.

La destrucción de las células epiteliales del colon es intensa, por la multiplicación inter e intracelular.

Casi todas las cepas de ECEI poseen antígenos somáticos relacionados con serotipos de *Shigella*, lo que demuestra la similitud de estos dos grupos de microorganismos.

No producen toxinas termolábiles (LT) ni termoestables (ST) ni toxina shiga.

El diagnóstico de ECEI se puede efectuar a partir del aislamiento primario en la materia fecal, estudiando el comportamiento bioquímico, caracterización serológica, capacidad invasiva por el test de Sereny o por ELISA que detecta las proteínas de membrana asociadas a la invasividad y por pruebas con sondas de ADN que detecte los genes para invasividad.

Para ello se parte del estudio de 8 -10 colonias de cepas sospechosas fermentadoras como no fermentadoras de lactosa, las que luego de ser identificadas como *Escherichia coli* se las caracteriza por diferentes pruebas bioquímicas como fermentación de lactosa, decarboxilación de la lisina y ornitina, motilidad, utilización de acetato y mucato, producción de indol y gas de glucosa.

La confirmación serológica se realiza con antisueros somáticos correspondientes a los serogrupos invasores.

La identificación de las cepas de ECEI por serotipado puede ser de utilidad.

Las cepas de ECEI que causan disentería pertenecen, en su gran mayoría, a los serogrupos O28, O29, O112, O115, O124, O136, O143, O144, O147, O152, O164 y O167.

Un dato importante, y es un gran aporte que el laboratorio puede hacer a la clínica y tratamiento posterior, es la observación en materia fecal de leucocitos, donde se considera una observación significativa, en 400X, a 5 leucocitos/campo microscópico o un glóbulo de pus en 20 campos observados, técnica muy accesible aún a pequeños laboratorios.

Otro método usado es la correlación existente entre el carácter invasor de ECEI con la capacidad de incorporar el colorante Rojo Congo a su citoplasma durante su crecimiento.

Escherichia coli enterohemorrágica (ECEH)

A partir de 1982 se reconoce a *Escherichia coli* O157:H7 como la responsable de un brote de colitis hemorrágica. A partir de allí llama la atención la presencia de esta diarrea sanguinolenta sin leucocitos.

Por oposición a la disentería clásica, en estos casos no hay invasión ni inflamación de la mucosa.

Estas cepas asociadas a la colitis hemorrágica producen toxinas similares a la de Shiga y son citotóxicas para las células Vero.

Ha sido reportado el aislamiento de estas cepas de *Escherichia coli* en preparados de hamburguesas de restaurantes relacionados con los brotes.

A partir de estos hechos, en nuestro país hubo progresos importantes en el estudio de estos gérmenes, que no sólo se relacionan con brotes de colitis hemorrágica, sino también con el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH).

La citotoxina que producen fue descrita en 1977 por Konowalchuk.

Es codificada por fagos, activa sobre células Vero y HeLa y ha sido denominada verotoxina 1 o toxina like shiga 1. Está relacionada con la toxina elaborada por *Shigella dysenteriae* que provoca agregación plaquetaria y cuyo mecanismo de acción más probable es la interacción entre el endotelio capilar y las plaquetas, con producción de daño del endotelio, depósito de fibrina y formación de microcoágulos.

Varios agentes se involucraron en el SUH además de *Escherichia coli*.

La búsqueda en el laboratorio se realiza a partir de cultivos primarios, el comportamiento fermentativo del sorbitol y la producción de la citotoxina.

Escherichia coli enteropatógena (ECEP)

Los ECEP pertenecen a serogrupos epidemiológicamente incriminados como patógenos cuyo mecanismo no está relacionado con enterotoxinas termolábiles ni termoestables ni con invasividad como *Shigella*.

Se conocían como enteropatógenos clásicos.

Es a partir de la década del '40 cuando se demuestra que son responsables de diarrea en los niños, particularmente en el primer año de vida.

Debido al hecho de que no se le reconocía mecanismo toxigénico ni invasivo, surge una controversia sobre si estos gérmenes eran o no patógenos, la que termina cuando, en base a evidencias epidemiológicas, se concluye que las cepas de ECEP eran obviamente patógenas pero que causaban diarrea por mecanismos distintos que el toxigénico por LT o ST o invasión.

Lo que sí está descrito en trabajos en voluntarios, en especial, que es lo que ha permitido aclarar y terminar con esta controversia, es que ECEP causa una lesión histopatológica ultraestructural distintiva en el intestino humano, visible con el microscopio electrónico y que no se observa en las cepas de ECET ni de

ECEI. La lesión histopatológica abarca la destrucción de las microvellosidades por las cepas de ECEP típicas sin gran evidencia de invasión.

Las bacterias están a menudo estrechamente adheridas al enterocito con la membrana a menudo ahuecada o envolviéndolas.

Por microscopía electrónica de ese tejido yeyunal se demostró el glicocáliz cubriendo la superficie luminal del enterocito y una franja de desorganización de las microvellosidades.

Muchas cepas de ECEP codifican una fimbria de tipo IV, denominada pilus formador de haces (BFP). Su adherencia a la célula epitelial de la mucosa intestinal se realiza por medio de un patrón llamado adherencia localizada (AL), que es muy importante en estas cepas

Esta habilidad para infligir una característica histopatológica en las células del epitelio intestinal del huésped, lesión conocida como anclado y destrucción o attaching-effacing (A/E), la ausencia de enterotoxinas y de fuerte invasividad, lo distinguen de otros *E. coli* y otros patógenos entéricos, donde la adherencia se realiza mediante adhesinas que proyectan desde la bacteria hacia la célula del huésped.

Muchos genes involucrados en la virulencia, en especial aquellos implicados en la secreción de proteínas por el sistema de secreción tipo III, son transportados en las “islas de patogenicidad”. Entre esos genes, son relevantes:

El *bfp* gen que codifica el BFP, antes comentado, que tiene la propiedad de formar agregados en grumos.

El gen *eae* que codifica la A/E, (*eaeA* codifica para la intimina, la proteína de adherencia íntima y el *eaeB* codifica para una proteína secretoria) dirigida por una isla de patogenicidad conocida como locus del borramiento del enterocito (LEE).

Muchos de estos genes codifican proteínas que alteran los microfilamentos de actina dentro de la célula intestinal del huésped.

El daño intracelular del enterocito se evidenció a través de modificaciones en los lisosomas y retículo endoplásmico desorganizado. Las cepas de ECEP se adhieren íntimamente a la superficie de los enterocitos.

Muchos investigadores, entre ellos Cravioto y colaboradores en 1981, reportaron que estas cepas se adherían, muchas de ellas, a cultivos de células HEp 2, una propiedad no presentada por ECET ni ECEI. Se describió un plásmido de 60 megadaltons que codificaba la propiedad de adhesividad a las células HEp 2. Ese plásmido se llamó factor de adherencia (EAF) de ECEP.

Las cepas de ECEP pueden adherirse de dos formas a las células HEp 2 y HeLa, una adherencia en forma difusa o sea extenderse en toda la superficie de la célula y una adherencia en forma localizada, en pocas áreas de la célula. La adherencia difusa la manifiestan diferentes cepas de *Escherichia coli*, la localizada algunas cepas de ECEP.

Scaletsky y Nataro diferencian la adherencia localizada de la difusa a las células HEp 2 y HeLa, y demostraron que la primera es plásmido dependiente. El rol del plásmido o factor de adherencia en las diarreas causadas por ECEP fue perfectamente estudiado por Levine (EEUU) en voluntarios. Así, por evidencias epidemiológicas en trabajos de Levine y Prado (Chile), se encontró que solamente las *Escherichia coli* que poseían el EAF de los ECEP clásicos eran capaces de causar diarrea. Esto ocurre posiblemente porque estas propiedades de virulencia parecen estar restringidas a las cepas de serogrupos clásicos.

Los serogrupos ECEP que no poseían el plásmido, EAF, y no daban adherencia localizada en las células HEp 2, han sido también incriminados en estudios epidemiológicos y en voluntarios, como causa de diarrea, a pesar de que su patogénesis a nivel molecular no es conocida con precisión como las ECEP EAF (+) y son consideradas como de segunda clase o clase 2.

Por razones históricas, patológicas y de patrones de adherencia, las ECEP se subdividen en clase 1 que exhiben adherencia localizada y la clase 2 que exhibe adherencia difusa o no adherencia.

Posteriormente, se reportó que algunas cepas ECEP elaboran moderadas cantidades de una citotoxina muy similar o idéntica a la toxina de *Shigella dysenteriae* tipo 1 y se sugiere que esa toxina puede ser un importante factor en la enfermedad por ECEP. Tanto en cultivo de tejidos como en intestino de animales, el efecto citotóxico determina muerte celular. En el intestino de los animales el efecto fue un aumento de la secreción de agua y de sodio desde la mucosa intestinal, y una gran destrucción de las microvellosidades que podría ser debida a la acción de las citotoxinas. No se sabe si el efecto citotóxico es por alteración de la permeabilidad de la mucosa.

Estas toxinas, además de la adherencia en la mucosa, colonización y una serie de alteraciones funcionales, son determinantes en la producción de diarrea.

Escherichia coli enteroadherente (ECEA)

Son cepas de *Escherichia coli* serotipos no clásicos, diarrogénicos, que no poseen un plásmido, como el factor de adherencia, y que fueron descritas por Mathewson identificadas sólo por un particular patrón de adherencia a células HEp 2 que es claramente distinguible de la adherencia localizada y de la adherencia difusa.

Se sugiere que la adherencia a HEp 2 puede ser un factor de virulencia no limitado a serogrupos de ECEP. Esta adherencia se llama enteroadherente. ECEA no elaboran toxinas termolábil o termoestable o niveles elevados de toxina Shiga like y no invaden células epiteliales.

Ha sido demostrado que estas cepas son negativas por test con sondas de ADN para ECEP, ECET, ECEI y ECEH.

Levine ha sugerido que estas cepas sean consideradas en una quinta categoría distintiva de cepas de *Escherichia coli* diarrogénico, identificable por un patrón característico de adherencia a células HEp 2.

Este patrón de adherencia es referido como adherencia agregativa, ya que estas cepas forman agregados entre ellas y entre ellas y las células HEp 2.

Se ha propuesto de que estas ECEA pueden ayudar a resolver esta controversia concerniente acerca de la importancia de *Escherichia coli* adherentes como patógenos.

Más estudios son necesarios para establecer la enteropatogenicidad de estos organismos, una vez de que ellos sean mejor caracterizados biológica y genéticamente en el laboratorio.

En modelos animales se ha visto que ECEA induce lesiones severas en el intestino en las cuales las vellosidades son destruidas y aplanadas. Este cambio patológico sugiere que estas cepas pueden estar asociadas clínicamente con diarrea prolongada.

Este tipo de lesiones histopatológicas, en los modelos animales, no han sido descritas en la mucosa intestinal infectada con ECET, ECEP, ECEI o ECEH.

La naturaleza de la lesión intestinal y el síndrome de neurotoxicidad en los animales inoculados con cultivos de estas bacterias, sugieren la participación de toxinas.

Cepas de *Escherichia coli* pueden presentar adherencia localizada, difusa o agregativa. ECEA representa una distinta categoría de *Escherichia coli* diarrogénica.

Shigella

Los diversos serotipos de *Shigella* se agrupan según semejanzas serológicas y de fermentación de hidratos de carbono en cuatro grupos: grupo A con *Shigella dysenteriae*, grupo B *Shigella flexneri*, grupo C *Shigella boydii* y grupo D *Shigella sonnei*.

Shigella dysenteriae es la principal responsable de la disentería bacilar, enfermedad de elevada transmisibilidad e infectividad.

S. dysenteriae 1 es poco frecuente en nuestro país y se la asocia al SUH.

Las otras especies del género shigella causan las diarreas inflamatorias disenteriformes con un mecanismo de acción que representa el paradigma del mecanismo invasivo.

La bacteriemia es infrecuente (en general no se las encuentra en hemocultivos) salvo en *S. dysenteriae* tipo 1 por ser resistente al poder bactericida del suero.

La invasión de las shigellas comienza en las células colónicas y rectales. Los microorganismos ingeridos son captados hacia vesículas por las células, en forma similar a la fagocitosis. Parece ser que la bacteria gatilla su propia entrada a la célula por medio de IPA (antígenos para la invasión- son proteínas de membrana externa codificadas por plásmidos), como en la fagocitosis.

Las shigelas, no móviles, recurren a diversos genes para aproximarse a la superficie mucosa antes de la invasión celular.

Tanto la invasión de las células intestinales como la supervivencia, constituye un complejo proceso que involucra a múltiples genes.

Shigella flexneri, la especie más involucrada en la EDA invasiva, es patógena debido que poseen grandes segmentos de ADN, llamados islas de patogenicidad que albergan y transportan los genes de virulencia.

Estos microorganismos utilizan el sistema de secreción tipo III para invadir la mucosa intestinal, inyectando proteínas, entre ellas IPA, desde el citoplasma bacteriano hasta el citosol de las células mucosas del huésped.

Varios genes expresan las shigellas que les posibilitan dirigirse hacia el citoplasma y a lo largo de los filamentos de actina, y posteriormente multiplicarse y diseminarse para colonizar células adyacentes.

El fenotipo olm (organelle-like movement) (organelas que semejan movilidad), y el fenotipo ics (intra-inter-cellular spread) (diseminación inter e intracelular) están involucrados en estos procesos.

Por estos mecanismos la bacteria, inmóvil, puede moverse en el citoplasma de la célula infectada y ser capaz de diseminarse entre ellas.

Luego de internalizadas las shigellas, ocurre la lisis de la membrana unida a la vacuola fagocítica, proceso ayudado por la hemolisina.

Se trata de bacterias muy invasivas.

Se produce la muerte y eliminación de las células adyacentes invadidas. Esto conduce a la formación de úlceras focales y al desarrollo de una respuesta inflamatoria en la lámina propia, (que producen las deposiciones mucosanguinolentas) que son las dos principales características de esta diarrea disintérica.

Las células epiteliales infectadas son inducidas a liberar citocinas proinflamatorias como la interleucina 8 (IL-8) y el factor- α de necrosis tumoral (FNT α).

Además, infectan macrófagos gatillando la liberación de (IL-1 β) y otras potentes citocinas inflamatorias.

Esta respuesta inflamatoria desestabiliza la integridad y permeabilidad de las membranas, lo que conduce a la expulsión de polimorfonucleares (PMN), permitiendo el acceso de más shigelas.

También la producción de citotoxinas lleva a la muerte de las células epiteliales y de las células de la mucosa colónica humana lo que, concomitantemente a la

liberación de restos de tejidos dañados, resulta en la expresión más elocuente de este mecanismo.

Shigella flexneri es por lejos, la de aparición más frecuente y los síntomas de la disentería que causa, incluyen dolor abdominal, diarrea, fiebre, vómito, sangre o mucus en las heces.

La bacteria es transmitida por la ruta ano-mano-boca, siendo el agua y los alimentos, los principales vehículos de transmisión, y la higiene de manos y alimentos, la principal vía de control.

Una vez ingerida, sobrevive al ambiente del estómago y se traslada al intestino, donde adhiere e invade.

Las especies de *Shigella* son altamente eficientes para infectar ya que requieren un bajo inóculo. 10 a 200 bacterias son suficientes para producir enfermedad en adultos sanos, dada su resistencia al pH gástrico.

Generalmente la diarrea se resuelve en 5 a 7 días, pero en algunos pacientes puede ser más refractaria a resolverse y necesitar hospitalización.

A veces la infección es severa, con fiebre muy elevada y se asocia con presentación súbita en niños menores de dos años. En algunas personas no se manifiestan síntomas pero sí transmiten las shigelas a otras no infectadas previamente.

En el mundo pobre la mortalidad es elevada y cerca del 50% de los casos positivos mueren en el hospital o por complicaciones posteriores.

Salmonella

Siguiendo el sistema de nomenclatura de *Salmonella* usado en la Organización Mundial de la Salud (OMS) la designación taxonómica completa es, *Salmonella enterica* subespecie enterica serotipo Typhimurium lo que puede abreviarse como *Salmonella* serotipo Typhimurium o *Salmonella* Typhimurium.

Actualmente se reconoce una sola especie, que ha sido denominada *Salmonella enterica* (antes *S. choleraesuis*) con 6 subespecies, o subgrupos. Esta subdivisión ha sido apoyada por varios métodos de hibridación ADN/ADN que complementan el genotipado.

Cada subespecie a su vez, está subdividida en serotipos o serovares, de acuerdo al tipo de antígeno H (flagelar) y O (somático). Se han descrito más de 2.375 serovares de *Salmonella*, que finalmente pertenecen al mismo género en base a su gran identidad en el genoma.

La mayoría de las salmonelas que producen enfermedad en el hombre pertenecen a la subespecie enterica: *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Enteritidis.

En la práctica diaria se la denomina *Salmonella* Enteritidis.

Además de la enteritis, en general estos microorganismos son causantes de infecciones sistémicas como fiebre tifoidea y otras, constituyendo un problema de salud pública en el mundo.

En el año 1988 nuestro grupo de trabajo descubrió los primeros casos humanos en el mundo, de infección por *Salmonella enterica* subs. *enterica* serovar Zaiman, llamada en la práctica *Salmonella* Zaiman.

Los serovares, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, son responsables de infecciones adquiridas por alimentos (carne, productos lácteos, huevos) derivados de animales infectados sintomáticos o asintomáticos. Tienen una amplia gama de huéspedes, tanto animales como humanos.

Las infecciones intestinales, producidas por las salmonellas no tifoideas se asocian a productos alimentarios. La fuente alimentaria está fehacientemente documentada como proveniente de animales bovinos y aves de corral infectadas, sus huevos y productos cárnicos.

Es importante recordar la capacidad de multiplicación de estas bacterias, en el interior del huevo, antes de que la cáscara haya sido totalmente formada. De allí la importancia en la prevención de estas infecciones, la que debe transitar no solo por la higiene exterior de los huevos.

La importancia de estos microorganismos en infecciones bacteriémicas severas y de dificultoso tratamiento, en personas desnutridas e inmunosuprimidos, con enfermedades malignas y especialmente SIDA, está asociada a la capacidad que los mismos tienen de sobrevivir dentro del fagocitos, agregado a la capacidad de transferir material genético involucrado en la resistencia a antimicrobianos.

La acidez gástrica es la barrera inicial de la colonización. El aumento del pH gástrico, aumenta sensiblemente la susceptibilidad a la infección.

En el intestino, la bacteria adhiere a las células epiteliales mediante fimbrias y puede iniciar la invasión mediante la endocitosis mediada por las bacterias, la que ocurre por las reorganizaciones citoesqueléticas que sufren las células del borde en cepillo.

Por este mecanismo las salmoneras penetran la mucosa intestinal, la invaden y pueden ser transportadas por los PMN.

La consecuencia de este proceso se evidencia en inflamación de la lámina propia, generalmente sin destruirla, y la presencia de moco y sangre en las heces en algunos casos.

Estas bacterias codifican un sistema de secreción tipo III en el interior de la isla de patogenicidad 1 de *Salmonella*, necesario para que se produzca la endocitosis y la invasión del epitelio intestinal.

Mediante este sistema, una serie de proteínas se translocan desde el citoplasma bacteriano al interior de la célula del huésped, las que regulan la polimerización de los filamentos de actina, como forma de regular los movimientos de las salmonelas, posibilitándoles (incluida *Salmonella Typhi*), luego de ser captadas por las células epiteliales intestinales, llegar a la membrana basal sin multiplicarse y ser liberadas hacia la lámina propia, sin daño celular.

El test de Sereny permite diagnosticar en el laboratorio la diferencia en el grado de destrucción del epitelio colónico. Para las *Shigella* spp. y ECEI, el test es positivo, por la habilidad de producir ulceraciones en el epitelio de la córnea del cobayo o conejo y negativo para las salmonellas y otros *E. coli*.

A medida que atraviesan la mucosa, para llegar a la lámina propia, con frecuencia las bacterias ingresan al torrente circulatorio y pueden ser recuperadas tempranamente en hemocultivos, luego rápidamente son captadas por los fagocitos y no hay bacteriemia persistente.

Entre los microorganismos que translocan la mucosa intestinal, penetran en la mucosa, llegan a profundidad en el epitelio superficial y pasan a los vasos sanguíneos, dando así una invasión sistémica, se encuentran *Salmonella Typhi*, *Salmonella* Enteritidis, *Campylobacter* y *Yersinia*.

En *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter* que pasan a la submucosa, el gran líquido que se produce se explica por la liberación, al agredir la célula, de citoquinas, como la IL8 que actúan sobre fibroblastos, PMN del corion y otras células

que segregan IL1 y 3 que liberan prostaglandinas y leucotrienos que tienen acción secretoria.

Una enterotoxina similar a la secretada por *Vibrio cholerae* y por ECET, estaría involucrada en este proceso.

El serotipo más frecuente causante de diarrea en nuestro país es actualmente *Salmonella* Enteritidis, seguida de *Salmonella* Typhimurium.

Si bien hay casos de diarrea disintérica, en América Latina es causa de 0.5 a 4% de los episodios diarreicos generalmente secretores.

La infección producida por las salmonellas no tifoideas produce una gastroenteritis aguda autolimitada que no se distingue de la gastroenteritis producida por muchos otros patógenos bacterianos. Se presenta como un ataque brusco que incluye náuseas, vómito, dolor abdominal, fiebre seguido de diarrea líquida mucosanguinolenta a veces, tras 24 a 48 hrs de haber ingerido el alimento o agua contaminada.

En niños pequeños y gerontes se puede presentar deshidratación y desequilibrio hidrosalino. En general la enfermedad se autolimita entre 3 a 5 días y las salmonelas se excretan por heces.

En escasos casos el examen microscópico de las heces puede mostrar neutrófilos pero raramente eritrocitos.

Campylobacter

La campylobacteriosis constituye una zoonosis, siendo los reservorios principales aves y cerdos.

Las especies *C. jejuni*, *C. coli* y *C. laridis* termofílicas, son productoras de diarrea.

Las aves zancudas migratorias que contaminan fuentes de agua y a diversos animales silvestres y domésticos, mantienen la cadena de transmisión.

Las aves de corral y sus productos son las principales fuentes de contagio del hombre, a los que se agregan el ganado, roedores, monos, moscas de potreros, entre otros.

Al hombre las bacterias llegan por contacto o indirectamente a través de alimentos contaminados.

Producen una enteritis aguda en todo el mundo, con variaciones estacionales y regionales, en especial en niños de 1 a 4 años y en adultos jóvenes.

Puede infectar a personas sanas o con inmunocompromiso previo

Dada la variación en la dosis infectiva, desde 200 bacterias (como las shigellas) a 10^6 , se cree que lo que determina la dosis infectante es la susceptibilidad del huésped y/o la virulencia de la cepa.

Como ocurre con otros enteropatógenos, puede ser eliminada por la acidez gástrica.

Varios son los factores de virulencia que *C. jejuni*, (el más involucrado en la EDA), pone en juego.

- Una enterotoxina citotónica muy similar a la LT de ECET y *V. cholerae*, que produce acumulación de AMPc y dos citotoxinas, tipo toxina shiga que se elaboran en bajo nivel.
- Un LPS de tipo rugoso con actividad endotóxica como todo bacilo gram-negativo.
- Proteínas flagelares fundamentales para la adherencia.

La movilidad le posibilita atravesar el moco y profundizarse en las criptas hasta llegar a las células blanco del intestino, previa adherencia.

Un mecanismo invasivo inflamatorio o un mecanismo secretorio o ambos, la bacteria puede desarrollar, luego de lograda la adherencia.

Se afirma que más del 50 % de las cepas que provienen de diarreas inflamatorias son hemolíticas, citotóxicas e invasivas, produciendo a veces enterotoxinas y las que provienen de diarrea secretora son casi totalmente altamente adherentes y productoras de toxinas citotónicas.

Esta diferencia estaría relacionada al estado previo del huésped. En huéspedes del mundo pobre, con alta contaminación microbiológica del ambiente, la dia-

rrea se presenta como secretora y en el mundo desarrollado la diarrea, por ausencia de inmunidad previa, se presenta más severa, hemorrágica, inflamatoria.

Da cuenta de ello el crecimiento de casos asintomáticos en el primer y segundo año de vida que se da en el mundo pobre.

La diarrea es generalmente autolimitada en 3 a 5 días y la frecuencia es similar o incluso mayor en algunas regiones, a la diarrea producida por *Salmonella* o *Shigella*.

Cuando la diarrea es sanguinolenta e inflamatoria, aparecen neutrófilos, eosinófilos y células mononucleares.

En casos más severos hay predominio de lesiones anorrectales que llegan a ulceraciones tipo colitis ulcerosa.

La colitis infecciosa por esta bacteria es semejante a la producida por *Shigella*, *Salmonella* y *Clostridium difficile*, y se hace difícil de diferenciarlas.

Es fundamental implementar el diagnóstico de *Campylobacter* a fin de evitar la formación de estas lesiones tipo colitis ulcerosa.

Otras enfermedades como colecistitis, adenitis mesentérica, apendicitis, infección urinaria, proctitis en homosexuales, peritonitis en pacientes en DPCA, meningitis, síndrome de Reiter, SUH, se asocian a estas bacterias.

Es de interés la sociación de *C. jejuni* con el síndrome de Guillain Barré. Se ha documentado infección reciente por *C. jejuni* en alrededor del 30% de los pacientes con síndrome de Guillain Barré, lo que estaría asociado a que estos pacientes comparten gangliósidos semejantes a estructuras del LPS de la bacteria.

Bibliografía

- ACHESON D. Shiga toxin producing *Escherichia coli* infection. Clin. Infect. Dis. 38:1298-303. 2004.
- AFAZANI A., BELTRAMINO D., BRUNO M.E., CAIROLI H., CARO M.B., CERVETTO J.L., DANIEL I. S., DE ROSA S., ESCOBAL N., FIGUEROA TURIENZO C., GARIBOTTO L., GIÚDICI I., GUASTAVINO E., HOXTER S., KENNY P., LAPACO M., LÓPEZ CASARIEGO V., MAZZA C S., MUÑECAS G., PANGARO G., PEDRA C., PÉREZ E., PIAZZA N., ROCCA L M., RUVINSKY R O., SORDÓ M E., SVERDLOFF H., TOCA M C., TOTORO A., VARELA A., ZLATKES R. Consenso nacional. Diarrea aguda en la infancia. Actualización sobre criterios de diagnóstico y tratamiento. <http://www.sap.org.ar/archivos/educación/consensos>.
- BACTERIOLOGY AT UW. Department of Bacteriology Madison-Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison 2002-2004. <http://www.bact.wisc.edu/bact330/bact330homepage>.
- BARON S. (Ed). Medical Microbiology. 4th Ed. The University of Texas Medical Branch (UTMB). <http://gsbs.utmb.edu>.
- BINSZTEIN N. Factores de virulencia y mecanismos fisiopatogénicos. Bacteriología Clínica Argentina. 1(3): Vol. N° 3, 1982, pág. 138-142.
- CECCHINI E. (Ed). Infectología y enfermedades infecciosas. Ed. Ediciones Journal. 2007.
- CONNELL M.M., ROWE B. Prevalence of the putative colonization factors CFA/III and PCFO 159:H4 in enterotoxigenic *Escherichia coli*. J. Infect. Dis. 159 (3):582-586, 1989.
- CRAVIOTO A., GROSS R.J., SCOTLAND S.M., ROWE B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. Current Microbiology. 3:95-9~ 1979.
- CURSO DE POSGRADO. Aislamiento y caracterización de *Vibrio cholerae*. Ministerio de Salud y Acción Social. Dirección Nacional de Medicina Sanitaria. Instituto Nacional de Microbiología "Carlos G. Malbrán". 1992.
- ECHEVERRÍA P., SETHABUTR O., PITRANGSI C. Microbiology and diagnosis of infections with *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli*. Rev. Infect. Dis. 13 (Suppl. 4):S2205, 1991.
- FARMER III J.J., DAVIS B.R. H7 Antiserum-Sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* 0157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 22:620-625, 1985.

- FARINATI A. Factores debidos a los microorganismos que determinan su capacidad uropatógena. Asociación Argentina de Microbiología. Boletín N° 97:12-16, 1992.
- GIANELLA A. Importance of the intestinal inflammatory reaction in *Salmonella* mediated intestinal secretion. Infect. Immun. 23:140-145, 1979.
- GUPTA A., POLYAK C.S. Laboratory confirmed Shigelosis in the United States, 1989-2002. Epidemiologic trends and patterns. Clin. Infect. Dis. 39:1-7. 2004.
- HUNT R. (Ed). Microbiology and Immunology on-line. University of South California. School of Medicine. <http://pathmicro.med.sc.edu>.
- JAY M.T., GARRETT V., MOHLE BOETANI J.C., BARROS M., FARRAR J.A., RIOS R., ABBOTT S., SOWADSKY R., KOMATSU K., MANDRELL R., SOBEL J., WERNER S.B. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection linked to consumption of beef tacos at a fast-food restaurant chain. Clin. Infect. Dis. 39(1):1-7. 2004.
- LÓPEZ VIDAL Y., CALVA J.J., TRUJILLO A., PONCE DE LEÓN A., RAMOS A., SVENNERHOLM A.M., AND RUIZ PALACIOS G.M. Enterotoxins and Adhesins of enterotoxigenic *Escherichia coli*: Are they risk factors for acute diarrhea in the community? J. Infect. Dis. 162:442-447, 1990.
- MATHEWSON J.J., CRAVIOTO A. Hep-2 cell adherence as an assay for virulence among diarrheagenic *Escherichia coli*. J. Infect. Dis. 159:1057-60, 1989.
- MERCADO E. Síndrome Urémico Hemolítico: ¿por qué Argentina? Editorial. Rev. Argent. Microbiol. 39:191-192.2007.
- MIMS C., NASH A., STEPHEN J. (Eds). Mims' Pathogenesis of infectious diseases. 5ª Edición. Academic Press. Londres, 2000.
- NATARO J.P., SCALETSKY I.C.A., KAPER J.B., LEVINE M.M., TRABULSI L.R. *et al*. Plasmid-mediated factors conferring diffuse and localized adherence of enteropathogenic *Escherichia coli*. Infect. Immun. 48:378-83, 1985.
- NATARO J.P., KOPER J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 11(1):142-201. 1998.
- NOTARIO R. Enfermedades diarreicas infecciosas. UNR Editora. Colección Académica. Universidad Nacional de Rosario. 2006.
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. La mortalidad por enfermedades infecciosas intestinales en América Latina y el Caribe en el periodo 1965-1990. Boletín Epidemiológico. 12(3):1, 1991.

- PÁL T., PÁCSA A.S., EMODY L., VOROS S. SÉLLEY E. Modified enzyme-linked-immunosorbent assay for detecting enteroinvasive *Escherichia coli* and virulent *Shigella* strains. J. Clin. Microbiol. 21:415-418, 1985.
- PATON J.C., PATON A.W. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin. Microbiol. Rev. 11(3):450-479. 1998.
- PRESCOTT L., HARLEY J., KLEIN D. (Eds). Microbiología. 5ª Edición. McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U. 2004.
- RICE A.L., SACCO L., HYDER A., BLACK R.E. Malnutrition as an underlying cause of childhood deaths associated with infectious diseases in developing countries. Bull. World Health Organ. 78(10):1207-1221. 2000.
- RÜTTLER M.E., RENNA N.F., BALBI L., GARCÍA B., GUIDONE L., FERNANDEZ R., PUIG O., ORTIZ A. Caracterización de cepas de *Escherichia coli* enteroagregativa aisladas de niños con diarrea aguda, en Mendoza, Argentina. Rev. Argent. Microbiol. 34: 167-170. 2002.
- SCALETSKY I.C.A., SILVA M.L.M., TRABULSI L.R. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. Infec. Immun. 45:534-6, 1984.
- SERENY B. Experimental *Shigella* keratoconjunctivitis. A preliminary report. Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 2:293-296, 1955.
- SETHABUTR O., HANCHALAY S., ECHEVERRÍA P., TAYLOR D.N., LEKSOMBOON U.A. Non-reactive DNA probe to identify *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* in stools of children with diarrhoea. Lancet. 2:10951097, 1985.
- SISTEMA NACIONAL DE VIGILANCIA DE LAS ENFERMEDADES. Ministerio de Salud y Acción Social de la República Argentina. Boletín Epidemiológico Nacional. Boletín Anual 1990.
- SOCIEDAD ARGENTINA DE PEDIATRÍA. Síndrome urémico hemolítico. Comité Nacional de Nefrología. Arch. Argent. Pediatr. 99(1):85. 2001.
- SOCIEDAD CHILENA DE INFECTOLOGÍA. Comité de Microbiología Clínica, Instituto de Salud Pública. Laboratorio de Referencia de Bacteriología, Universidad de Chile. Instituto De Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina. Síndrome diarreico agudo: Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico. Rev. chil. infectol. 19(2):101-113. 2002.
- SVENNERHOLM A.M., WIKLUND G., Rapid GMI-Enzyme-Linked Immunosorbent assay with visual reading for identification of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. J. Clin. Microbiol. 17:595-600, 1983.

- SVENNERHOLM A.M., WIKSTROM M., LINDBLAND M., HOLMGREN J. Monoclonal antibodies against *Escherichia coli* heat-stable toxin (ST) and their use in a diagnostic ST Ganglioside GM1 enzymeimmunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 24:585-590, 1986.
- TRABULSI L.R., TOLEDO F.M.R., PRADO V. *E.coli* enteropatógena. Adel. Microbiol. Enf. Infecc. 3:62-95, 1984.
- VIAL P.A., ROBINS BROWNE R., LIOR H., PRADO V., KAPER J.B., NATARO J.P., MANEVAL D., ELSAYED A., LEVINE M.M. Characterization of enteroadherent-aggregative *Escherichia coli*, a putative agent of diarrheal disease. J. Infect. Dis. 158:70, 1988.
- VILA J., RUIZ J., GALLARDO F., VARGAS M., SOLERT L., FIGUERAS M.J., GASCON J. *Aeromonas* spp. and traveler's diarrhea: clinical features and antimicrobial resistance. EID 9(5): 552-555. 2003.
- WOOD P.K., MORRIS JR. J.G., SMALL P.L.C., SETHABUTR O., TOLEDO M.R.E., TRABULSI L., KAPER J.B. Comparison of DNA probes with the Sereny test for identification of invasive *Shigella* and *Escherichia coli* strains. J. Clin. Microbiol. 24:498-500, 1986.

LA ENFERMEDAD

DIARREICA EN MISIONES

Hacia la década del 80 la provincia de Misiones, presentaba cifras alarmantes de diarrea infantil, registrándose para el año 1986 una tasa de morbilidad de 2414 por 100000 habitantes (datos de la Dirección de Estadísticas. Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones 1987).

En aquella época en nuestra provincia esta situación estaba agravada por las deficiencias sanitarias y asistenciales existentes, donde amplios sectores de la población carecían de servicios sanitarios mínimos como potabilidad de agua de consumo y las medidas que hacen a la salubridad sanitaria como eliminación de excretas y residuos.

Hacia 1980, según Censo poblacional, la ciudad de Posadas presenta una población estimada en 184612 habitantes con 22867 niños menores de 5 años de edad (1988).

Nuestro grupo de trabajo de la Cátedra de Bacteriología, inicia el estudio de la diarrea aguda de la infancia en Misiones hacia el año 1984, como Cátedra exclusivamente.

El primer estudio de la diarrea de la infancia estuvo diseñado y realizado para conocer el escenario del momento en el tema, dada la ausencia de datos en la región, esto es conocer la frecuencia y distribución de enteropatógenos en niños menores de 5 años, con diarrea aguda y sin tratamiento antimicrobiano previo. El estudio integral de la etiología de la diarrea aguda infantil es prioritario para

establecer las bases científicas del control epidemiológico, la terapéutica y la prevención.

Con ese objetivo desde 1985 el grupo de la Cátedra es invitado a participar en un Proyecto Colaborativo Multicéntrico de SECyT, con diferentes Centros de Investigación del País, el que integra, a fin de profundizar el estudio de la diarrea aguda infantil.

Participan de este Proyecto Colaborativo, 10 laboratorios de distintas provincias del país, 7 relacionados con la atención hospitalaria y 3 del Instituto Nacional de Microbiología Carlos Malbrán (en el marco del convenio Internacional Argentina- Suecia entre la Universidad de Goteborg, Suecia y el Instituto Nacional de Microbiología “Carlos Malbrán “ de Argentina), Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico de la Universidad Nacional de Misiones, Secretaría de Ciencia y Técnica de la Nación Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Diversas líneas de investigación se fueron desarrollando hasta el año 2004, que se realiza el último trabajo vinculado al tema

Los estudios realizados

En este marco se estudió la frecuencia y distribución por edades y distribución estacional de enteropatógenos en niños de 0 a 5 años de edad, con diarrea aguda, hospitalizados y ambulatorios en los 7 Centros Asistenciales de distintas áreas geográficas del país (Córdoba, Tucumán, Rosario, Posadas, Mar del Plata, La Plata y Buenos Aires).

Se estandarizaron los criterios de inclusión de la población a estudiar y la metodología.

A todas las muestras de materia fecal se les realizó examen en fresco para la investigación de parásitos y coloración para microorganismos espirilados y *Cryptosporidium*.

Se realizó cultivo para la búsqueda de bacterias enteropatógenas, sus mecanismos de patogenicidad y la sensibilidad antimicrobiana.

Dado la mayor frecuencia de los hallazgos de *Escherichia coli* diarrogénicos en nuestra comunidad, el estudio y caracterización de dichas cepas posibilitó un

profundo conocimiento en el tema, que redundó en beneficio de la comprensión de los mecanismos de la producción de la diarrea y fundamentalmente de beneficio en el abordaje terapéutico de cada caso.

Fueron así estudiados los *Escherichia coli* enterotoxigénico (ECET), *Escherichia coli* enteroinvasivo (ECEI), *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP), *Escherichia coli* enterohemorrágico (ECEH), *Escherichia coli* enteroadherente (ECEA).

La significancia estadística de la distribución proporcional de enteropatógenos, según edad, sexo y condición de ambulatorios o internados, se estudió en 1526 niños entre 0 y 4 años de edad, con diarrea aguda, hospitalizados y ambulatorios provenientes de los 7 Centros Asistenciales del país, integrantes del Proyecto.

Ya hacia el año 1988, y con la participación de los 7 Centros Asistenciales y 3 laboratorios del Instituto Nacional de Microbiología Carlos Malbrán, se estudió la diarrea aguda infantil y se estandarizó la metodología de trabajo estudiando 3408 casos de diarrea.

Fueron de impacto en la tarea investigativa y en la repercusión clínica y epidemiológica los siguientes hallazgos realizados por el grupo de la Cátedra de Bacteriología:

- Los primeros casos humanos en la República Argentina, de *Salmonella* Hadar, en Posadas en enero de 1988.
- La detección de un infrecuente caso de diarrea y sepsis por *Shigella flexneri* 6 en 1988.
- Los primeros estudios en Misiones, de la participación de *Aeromonas* spp. en la diarrea aguda infantil.
- El primer aislamiento de *Campylobacter jejuni* en la provincia de Misiones.
- Los primeros aislamientos en humanos en el mundo de *Salmonella* Zaiman.

El estudiar la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella* y *Shigella* en la diarrea infantil en Posadas, posibilitó disponer del conocimiento necesario para la instauración de terapias empíricas.

Siendo Misiones una provincia libre de cólera, consideramos de interés conocer la susceptibilidad de la población a la infección dada la posibilidad, por clima y ubicación geográfica, de entrada de la enfermedad en la provincia (enfermedad que ya había ingresado al país). Para ello realizamos un estudio de investigación de anticuerpos vibriocidas en la población de Posadas.

Dado que estudios previos realizados por el grupo de trabajo, detectaron un alto grado de infecciones y reinfecciones por ECET, se inició en abril de 1993 un nuevo trabajo: “SEGUIMIENTO DE INFECCIONES Y REINFECCIONES”, en colaboración con el Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones, (Resolución 564 de aceptación del trabajo), Instituto Nacional de Microbiología “Carlos Malbrán” de Buenos Aires y la SAREC (Swedish Agency for Research Cooperation with Developing Countries) en el marco del convenio para cooperación científica en el tema entre Suecia y Argentina.

Se estudió ECET: colonización, infección, enfermedad, factores de virulencia y se realizaron estudios tendientes a investigar si estos microorganismos proveen protección contra la colonización y/o enfermedad desde el nacimiento hasta los dos primeros años de vida, y el potencial rol protector de anticuerpos en leche materna.

Dicho trabajo de dos años de duración se inició con la selección, previo consentimiento de madres en el último mes de gestación, y de sus bebés recién nacidos los que, mediante una severa vigilancia epidemiológica con visitas domiciliarias semanales realizadas por trabajadores sociales, fueron controlados en su estado de salud, tomándose los especímenes necesarios para los estudios enunciados, cada 15 días. Para tal finalidad se estudiaron factores de colonización y los anticuerpos séricos anti-factores de virulencia de ECET.

Se evaluó en niños con y sin diarrea a fin de evaluar el grado de colonización, portación y/o enfermedad y la respuesta inmune. El momento de la colonización por ECET, tan frecuente en Misiones, se investigó también en este estudio de seguimiento de dos años.

Los factores de riesgo para la adquisición de la diarrea se pudieron investigar en diversas poblaciones ribereñas de la ciudad, donde algunos factores como el uso del agua, ya sea para consumo, higiene o recreación, fueron determinantes de la contaminación microbiológica del ambiente y de la temprana adquisición de enteropatógenos por los niños.

El conocimiento de los perfiles de susceptibilidad de las diversas categorías de *Escherichia coli* impactó en decisiones terapéuticas de pediatras.

Las investigaciones continuaron ampliándose y profundizándose para llegar a estudiar los factores de virulencia más reconocidos de las diversas categorías de *Escherichia coli* y las posibilidades diagnósticas en el laboratorio, de dichos factores.

El estudio de la diarrea de la infancia finaliza con las investigaciones de la acción de concentraciones sub inhibitorias de diversos antimicrobianos sobre algunos factores asociados a la patogenicidad de los microorganismos ya diagnosticados asociados a la diarrea.

A través de diez años de investigación de la enfermedad diarreica en Misiones, se abordaron diversos temas:

- FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE ENTEROPATOGENOS
- FACTORES DE VIRULENCIA
- FACTORES DE RIESGO
- SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA
- ACCIÓN DE ANTIMICROBIANOS SOBRE FACTORES DE VIRULENCIA.

LA PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN
DE ENTEROPATÓGENOS

Identificación de enteropatógenos en diarrea de la infancia en un estudio realizado en la ciudad de Posadas, Misiones

Jorge Deschutter, Viviana Villalba, Marina Quiroga, Lidia Amer, Jorge Gutiérrez, Marta Vergara.

Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.
Publicado en Revista de la S.G.C. y T. Año 3. N° 5. 1987.

Resumen

El presente trabajo informa los resultados de aislamiento de enteropatógenos a partir de niños con procesos de diarrea aguda. Se estudia además los enteropatógenos potenciales y las asociaciones entre los diferentes microorganismos aislados.

Se estudiaron 301 casos que respondían al siguiente protocolo: niños menores de cinco años de edad, con menos de siete días de evolución de su diarrea, sin tratamiento antibiótico previo, internados o ambulatorios del Hospital R. Madariaga y algunos Consultorios Periféricos.

La investigación estuvo dirigida a conocer la incidencia, frecuencia y distribución de estos microorganismos. Relacionar el cuadro clínico con estos hallazgos.

Se efectuaron 301 coprocultivos en el período comprendido entre agosto de 1984 y abril de 1985, fecha esta última en que este grupo de trabajo pasa a participar, de un Proyecto Colaborativo Multicéntrico con diferentes Centros Científicos del País, dentro del Programa Nacional de Enfermedades Endémicas.

Del total de los 301 casos que se analizan aquí, se obtuvo un 51,9% de aislamientos de enteropatógenos tradicionales. Los aislamientos fueron: *Salmonella* 2,3%, *Shigella* 6,6%, *Escherichia coli* EPI 13,6%, enteroparásitos 17,4% y rotavirus 12%. En cuanto a los potencialmente patógenos, totalizaron un 11,5%. Las

asociaciones entre gérmenes patógenos o potencialmente patógenos fueron del 10,19%. Podemos concluir, en este muestreo, que la metodología usada es útil para encontrar el agente etiológico en alrededor del 50% de los casos. La sintomatología no nos orienta acerca del germen involucrado.

Enteropatógenos asociados a diarrea aguda infantil en Argentina

Norma Binsztein, Ariel Depetris, Teresa Eiguer, Daniel Maurel,
Olga Nader, Rodolfo Notario, Adriana Novillo, Ana María
Picandet, Marta Rivas, Maritzia Szefner, Marta Vergara
(Proyecto Colaborativo, Secretaría de Ciencia y Técnica, Buenos
Aires.

Publicado en Medicina (Buenos Aires). Vol. 47, N° 6, pp. 656,
1987.

Presentado en Congreso Nacional de Infectología Clínica, Mar
del Plata, 1987.

Resumen

Se estudiaron 1526 casos de diarrea aguda en niños de 0 a 4 años, hospitalizados y ambulatorios, en 7 centros asistenciales de distintas zonas del país. La mayor incidencia (65,3%) correspondió a niños de 1 a 11 meses de edad. En 718 casos (47,1%) se identificaron 1 o más patógenos, con 7,4% de asociaciones siendo las más frecuentes las de *Escherichia coli* enteropatógeno infantil (*E. coli* EPI) con Rotavirus (RV) y con *Shigella* (Sh). La detección de enteropatógenos fue homogénea en los distintos grupos etarios, salvo en los menores de un mes en los cuales sólo se hallaron en el 26,9% de los niños. La distribución proporcional de los principales enteropatógenos fue: *E. coli* EPI (38,4%), con predominio de los serogrupos "O"111, 55 y 119, RV (18,1%), Sh (15,3%) exclusivamente *Sh. flexneri* y *Sh. sonnei*, *E. coli* enterotoxigénico (10,6%) y *Salmonella* (7,3%), principalmente *S. typhimurium*. La frecuencia de *Giardia lamblia* y Sh aumentó con la edad, mientras que la de RV disminuyó. El aislamiento de RV fue significativo en varones ($p < 0,05$), como así también en los niños hospitalizados ($p < 0,05$), para estos últimos fue también altamente significativo el predominio de *E. coli* EPI ($p < 0,001$). Se debe destacar que de los 5 casos en los que se aisló *Aeromonas*, 4 correspondieron a niños hospitalizados. No se aisló *Vibrio* y los 2 casos asociados a *Yersinia* correspondieron a niños menores de un mes que requirieron hospitalización.

Integrantes Proyecto Colaborativo Multicéntrico



Frecuencia de enteropatógenos en casos de diarrea aguda infantil en la República Argentina

Norma Binsztein, Ariel Depetris, Teresa Eiguer, Daniel Maurel, Olga Nader, Rodolfo Notario, Adriana Novillo, Ana María Picandet, Marta Rivas, Maritzia Szefner, Marta Vergara (Proyecto Colaborativo-Secretaría de Ciencia y Técnica-Buenos Aires, Argentina).

Presentado en Congreso Internacional de Microbiología, Iquito, Perú, junio 1987 y en X Congreso Latinoamericano de Microbiología, Buenos Aires, Argentina, 1987.

Se estudiaron 711 niños, de 0 a 5 años, con diarrea aguda, hospitalizados y ambulatorios, provenientes de 7 centros asistenciales de distintas áreas geográficas. En 351 casos (49,4%) se identificaron 1 o más patógenos, siendo los mas frecuentes *E. coli* EPI (20,8%), Rotavirus (RV) (9,7%) y *Shigella* (SHI) (7,6%). En el 6,2% de los casos hubo asociación de 2 agentes. La distribución mensual mostró un predominio de RV en los meses fríos y de SHI en los cálidos. La frecuencia de enteroparásitos y SHI aumentó con la edad. Los porcentajes de ECET fueron bajos en todos los grupos erarios. Si bien no se hallaron diferencias significativas según sexo para el total de los casos, RV, *Salmonella* y ECET-ST predominaron en varones y SHI en mujeres. No se aislaron ni *Yersina* ni *Vibrio*. *Campylobacter* se detectó en el 4% de las muestras, estando asociado a otros patógenos en la mitad de las mismas. RV predominó en niños hospitalizados, no así los otros patógenos.

Identificación de enteropatógenos en la diarrea de la infancia en un estudio realizado en la ciudad de Posadas, Misiones

Marta Vergara, Marina Quiroga, Jorge Deschuter, Sandra Grenón, Eduardo Pegels, Cristina González, Liliana Brito, Graciela Jordá, Viviana Villalba, Jorge Centeno, Oscar López, Miriam Chade. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Publicado en Medicina Misiones, Año II, N° 1, pp. 3-8, 1988.

Resumen

El presente trabajo informa de los resultados de aislamientos de Enteropatógenos en niños menores de cinco años, sin tratamiento antibiótico previo, con menos de siete días de evolución de su diarrea, internados o ambulatorios del Hospital R. Madariaga, desde junio de 1986 hasta enero de 1987. Estudio que continúa hasta la fecha.

Del total de 252 casos estudiados, resultaron 65,5% de aislamientos positivos para Enteropatógenos, con una incidencia de 62% de bacterias, 12% de Rotavirus y 26% de parásitos entre los Enteropatógenos aislados. De la evaluación realizada surge que *Shigella flexneri* serotipo 2 ocupa el primer lugar con respecto a *Shigella*, siendo el serotipo 2 el que produce cuadros más severos de enteritis, datos que concuerdan con el resto del país. Del análisis de *Escherichia coli* EPI, se destaca la mayor frecuencia del serotipo O111:B4, como en otras publicaciones del país. Se destaca el primer aislamiento de *Salmonella* Zaiman en humanos, nueva serovariedad a nivel mundial. Se destaca además el primer aislamiento en humanos en la Provincia de Misiones de 1) *Campylobacter yeyuni*, 2) Cepas enterotoxigénicas de *Escherichia coli* y 3) *Aeromonas hydrophila*. Se apunta la necesidad de continuar con este estudio a fin de colaborar con una mejor vigilancia epidemiológica de las enteritis.

Enteropatógenos asociados a diarrea aguda infantil en Argentina.

Norma Binsztein, Ariel Depetris, Teresa Eiguer, Daniel Maurel, Olga Nader, Rodolfo Notario, Adriana Novillo, Ana María Picandet, Marta Rivas, Maritzia Szefer, Marta Vergara (nómina completa de autores en los proyectos respectivos). Proyecto Colaborativo Multicéntrico. Secretaría de Ciencia y Técnica. Buenos Aires.

Presentado en el V Congreso Argentino de Microbiología. Mar del Plata. 1988.

El estudio integral de la etiología de la diarrea aguda infantil es prioritario para establecer las bases científicas del control epidemiológico, la terapéutica y la prevención. Con ese objetivo se comenzó, en septiembre de 1985, este proyecto colaborativo del que participan 10 laboratorios, 7 relacionados con la atención hospitalaria y 3 del Instituto Nacional de Microbiología.

Se estandarizaron los criterios de inclusión de la población a estudiar y la metodología. A todas las muestras de materia fecal se les realizó examen en fresco para la investigación de parásitos y coloración para microorganismos espirilados y *Cryptosporidium*. Se realizó coprocultivo para la búsqueda de bacterias enteropatógenas (1). En las cepas de *E. coli* aisladas (3 a 5/caso), se realizó la detección de enterotoxinas lábil LT (2) y estable ST (3) al calor. Rotavirus (RV) se investigó por ELISA (4) y electroforesis en gel de poliacrilamida.

Se estudiaron 3408 casos de diarrea aguda en niños de 0 a 4 años, sin antibióticoterapia, con distribución homogénea entre hospitalizados y ambulatorios. El predominio de casos de diarrea (67,4%) se registró en el período estacional primavera-verano y en niños de 1 a 11 meses de edad (63,8%). Los pacientes fueron atendidos en 7 Centros Asistenciales de distintas zonas del país (Córdoba, Tucumán, Posadas, Rosario, Mar del Plata, La Plata y Buenos Aires).

En 1968 casos (49,8%) se identificaron 1 o más patógenos con un 8,1% de asociaciones, siendo las más frecuentes las de *E. coli* enteropatógeno (ECEP) con otros agentes, principalmente RV y *Shigella* (Sh) y la de RV con Sh y *Salmonella* (S),

además de ECEP. La identificación de enteropatógenos fue mayor en los niños hospitalizados que en los ambulatorios ($p<0,01$) y fue homogénea en todos los grupos etarios, excepto en los menores de 1 mes (26,4%).

La distribución proporcional de los principales enteropatógenos fue: ECEP (36,3%) con predominio de los serogrupos 0111, 119 y 55, RV (18,8%), Sh (14,2%) casi exclusivamente *Sh. flexneri* y *Sh. sonnei* y 2 casos de *Sh. dysenteriae*. *E. coli* enterotoxigénico (1 1,5%) y S (8,9%) principalmente *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*. La mayor incidencia de RV se registró en los meses de otoño e invierno ($p<0,001$) y la de Sh en primavera y verano ($p<0,001$). En cambio el resto de los enteropatógenos mostraron similar distribución en las 4 estaciones del año. La frecuencia de *Giardia lamblia* y Sh aumentó con la edad, mientras que la de RV disminuyó. Entre los niños hospitalizados fue altamente significativo el predominio de ECEP ($p<0,001$). Se debe destacar que de los 19 casos en los que se identificó a *Aeromonas*, 13 correspondieron a niños hospitalizados. No se aisló *Vibrio* y los 2 casos asociados a *Yersinia* correspondieron a niños menores de 1 mes que requirieron internación.

Bibliografía

1. MARTIN W.J. y col. Manual of Clinical Microbiology (3rd Ed.) American Society for Microbiology, Washington DC, 1985.
2. RIVAS M. y col. Producción de enterotoxina termolabil por cepas de *E. coli* aisladas en Argentina, Rev. Arg. Microbiol. 19:91-100, 1987.
3. DEAN A.G. y col. Test for *E. coli* enterotoxin using infant mice application in a study of diarrhea in children in Honolulu. J. Infect. Dis. 125:407-411, 1972.
4. BEARDS G.M. Enzyme linked immunosorbent assay based on polyclonal and monoclonal antibodies for Rotavirus. J. Clin. Microbiol. 19:248-254, 1984.

Electroferotipos de Rotavirus humanos en tres áreas de la República Argentina.

Sandra N. Basnec, Miguel O. Giordano, Silvia Nates, Marta Vergara, Rodolfo Notario, Ariel Depetris. Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, UNC-Proyecto Colaborativo SECYT.

Presentado en el V Congreso Argentino de Microbiología. Mar del Plata, 1988.

La gastroenteritis es una de las principales causas de morbi-mortalidad infantil y un importante factor de malnutrición, habiéndose determinado una participación etiológica de Rotavirus con una frecuencia anual variable de 7% a 63% según los estudios. El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de Rotavirus como agente etiológico de diarrea aguda infantil en tres áreas geográficas de la República Argentina, comparando los electroferotipos virales y caracterizando su distribución regional. Se estudiaron un total de 1385 muestras de materia fecal correspondientes a niños menores de 5 años, internados y ambulatorios, en el período comprendido entre Enero 1986 y Marzo 1988. Se utilizó la técnica de electroforesis en geles poliacrilamida (PAGE/SS) del RNA viral para estudiar la variabilidad de electroferotipos. La frecuencia de Rotavirus fue de 14,2% en Córdoba (35/247), 10,0% en Misiones (68/683) y 4,2% en Rosario (19/455); en el análisis de la distribución proporcional de todos los enteropatógenos estudiados, Rotavirus ocupó el segundo lugar en Córdoba (24,6%), el tercer lugar en Misiones (15,6%) y el cuarto lugar en Rosario (7,0%). La distribución estacional mostró tanto en Córdoba como en Misiones un predominio de Rotavirus en Otoño-Invierno, comparado con Primavera-Verano ($p < 0,01$), dicho predominio también se manifestó al considerar la condición de paciente hospitalizado ($p < 0,01$). Entre las 122 muestras positivas se identificaron 14 variedades de electroferotipos, correspondiendo un 66% a la variedad corta (S) y un 34% a la variedad larga (L), existiendo diferencias regionales de distribución. Entre los electroferotipos largos se detectaron 10 variedades diferentes y entre los cortos 4. Una de las variedades (variedad 1) se encontró con alta frecuencia en las tres áreas (Rosario 79,0%, Misiones 32,0% y Córdoba 23,0%).

Se identificaron tres variedades comunes a las tres áreas, cinco variedades comunes a dos áreas y seis variedades locales. En las áreas estudiadas Rotavirus fue un importante agente enteropatógeno especialmente en los meses fríos y en pacientes que requirieron hospitalización, destacándose la variabilidad regional de la frecuencia y de los electroferotipos.

Bibliografía

1. CUKOR G., BLACKLOW N.R. Human viral Gastroenteritis Microbiological Reviews, 48:157-177, 1984.
2. ESTES M.K. GRAHAM D.Y.; DIMITROV D.H. The Molecular Epidemiology of Rotavirus Gastroenteritis. Prog. Med. Virol. 29:1-22, 1984.
3. DOLAN R.I., TWIST E.M. *et. al.* Epidemiology of Rotavirus Electropherotypes determined by simplified diagnostic technique with RNA analysis. J. Clin. Microbiol. 21:753-758, 1985.

***Salmonella* Hadar: primeros casos humanos en la República Argentina**

Marta Vergara, Teresa Eigner, Sandra Grenón, Marina Quiroga, María Inés Caffer, Eduardo Pegels, Viviana Villalba. Cátedra Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán".

Presentado en el V Congreso Argentino de Microbiología. Mar del Plata, 1988.

Hasta 1970, la taxonomía de *Salmonella* se basaba únicamente en el estudio de los caracteres bioquímicos convencionales y antigénicos. En 1982, Le Minor y col. (1) propusieron una nueva subdivisión basada en la investigación de caracteres fenotípicos y genómicos, cuya combinación permite diferenciar actualmente siete taxones, que tienen el nivel de subespecies, divididos a su vez en serovariedades, que constituyen el esquema de Kauffman-White (2).

Salmonella Hadar, serovariedad aislada por primera vez en el país de casos humanos, objeto de la presente comunicación, está ubicada dentro del taxón 1, subespecie I y por lo tanto se la designa con un nombre, a diferencia de la de otros taxones, que se denominan con la subespecie, seguida de la fórmula antigénica (3).

Salmonella Hadar fue detectada en heces de 3 niños menores de 1 año, con diarrea aguda, en Posadas (Misiones) durante el desarrollo de un Proyecto Colaborativo Multicéntrico del País sobre Diarrea de la Infancia, iniciado en 1985. Todos los casos que se produjeron durante la temporada estival (enero 1988), presentaron menos de 7 días de evolución de su cuadro diarreico, con fiebre manifiesta y leucocitos en heces (Cuadro 1). De ellos, residentes en Posadas, dos corresponden a familias de escasos recursos que ocupan viviendas carentes de instalaciones sanitarias. El tercero, de alto nivel socio-económico, no requirió internación, pero adquirió la enfermedad en Buenos Aires.

El niño con mayor deshidratación presentó dos episodios diarreicos, uno asociado a *Escherichia coli* O86:B7 y el otro a *Salmonella* Derby. Todos los casos evolucionaron bien.

Para el procesamiento de las muestras e identificación bioquímica de los enteropatógenos aislados se siguió la metodología descripte en (4). Las cepas fueron definitivamente identificadas en el Centro Nacional de Referencia de Enterobacterias y Vibrio y confirmadas en el Centro Internacional de Salmonella, del Instituto Pasteur de París. Interesa señalar que el primer aislamiento en el país de *Salmonella* Hadar, se efectuó en pollos de la provincia de Buenos Aires en el mismo período del año, conjuntamente con otra cepa de origen hídrico (Río Luján).

Cuadro 1			
CASOS	1	2	3
CUADRO CLÍNICO			
ambulatorio	-	-	sí
días evolución	3	4	6
deposiciones diarias	4	10	4
vómitos	no	sí	no
deshidratación	leve	moderada	sin
desnutrición	grave	leve	sin
NIVEL SOCIOECONÓMICO			
tipo de vivienda	rancho	rancho	material
provisión de agua	grifo público	pozo precario	corriente
sanitarios	letrina	letrina	baño
DATOS DE LABORATORIO			
Parásitos	no	no	no
Bacterias detectadas			
1er. episod.	S. Hadar	S. Hadar + <i>E. coli</i> O86:B7	S. Hadar
2do. episod.	-	S. Hadar + S. Derby	-

Bibliografía

1. LE MINOR L., POPOFF M.J. Designation of *Salmonella enterica* sp., nov. nom. rev., as the type and only species of the genus *Salmonella*. Int. J. Syst. Bacteriol. 37:465-468, 1987.
2. KAUFMAN F., EDWARDS P.R. Classification and nomenclature of *Enterobacteriaceae*. Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 2:2-8, 1952.
3. EIGUER T., CAFFER M.T. Taxonomía de Salmonella. En prensa Rev. Arg. Microbiol. 20, N° 3, 1988.
4. MANUAL DE LABORATORIO DE INFECCIONES ENTÉRICAS AGUDAS. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Regional de la OMS, edic. esp., 1983.

Aislamiento de *Shigella flexneri* 6 de heces y sangre de un paciente con diarrea aguda y sepsis

Marta Vergara, Teresa Eigner, Sandra Grenón, Eduardo Pegels, Cristina González, Miriam Chade. Cátedra Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán".

Presentado en el V Congreso Argentino de Microbiología. Mar del Plata, 1988.

La infección gastrointestinal por *Shigella* es frecuente en nuestro país (1), no así la bacteriemia por este agente, dado que rara vez las shigellas atraviesan la pared intestinal y se diseminan a otros sitios del organismo (2). En el paciente desnutrido, en ancianos y en niños pequeños, la enfermedad es de larga duración y la mortalidad por deshidratación y desequilibrio electrolítico es mayor, siendo el prolapso rectal poco frecuente (3).

Dado el escaso número de informes de bacteriemias por este germen (2) (4), consideramos conveniente comunicar este hallazgo.

Se describe un caso de un aislamiento simultáneo de *Shigella flexneri* 6 a partir de heces y sangre de un paciente portador de un cuadro de diarrea y sepsis.

Paciente de cinco meses de edad, de escaso nivel socioeconómico, sexo masculino, internado con vómitos y diarrea. Luego de un plan de rehidratación oral durante 24 horas, es dado de alta sin estudios microbiológicos.

A los 5 días es internado nuevamente gravemente afectado, con deshidratación aguda, acidosis metabólica, hipertermia, presentando fisura anal y prolapso rectal, taquipnea y taquicardia, con diarrea con abundante pus y sangre, siendo derivado a Terapia Intensiva por "sepsis con severo compromiso del estado general con foco enteral".

El hemograma informa de neutrofilia con desviación a la izquierda y con granulaciones tóxicas, patognomónicas de infección.

Se toman muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR), punción suprapúbica (PSP), sangre (2 muestras) y materia fecal para cultivos microbiológicos y se inicia el tratamiento con ampicilina y gentamicina en dosis habituales.

Las muestras de LCR y PSP resultaron negativas para gérmenes y de los cultivos de 2 tomas de sangre y heces se recuperó solamente *Shigella flexneri*.

Los hemocultivos se realizaron por siembra en medios comerciales y se procesaron según metodología estandarizada. Para el estudio de heces e identificación bioquímica de los gérmenes se siguió la metodología descrita en (5). La caracterización serológica se efectuó con los antiseros provistos por el Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán", donde se identificó definitivamente las cepas como *Shigella flexneri* 6.

Se evaluó la sensibilidad de las mismas con el antibiograma por difusión en agar (Kirby-Bauer), encontrándose comportamiento similar, con resistencia a ampicilina, sulfisoxazol y timetroprima-sulfametoxazol.

Conocida la sensibilidad, se corrigió el esquema de tratamiento y el niño evolucionó favorablemente, siendo dado de alta a los 18 días de internación.

Llamamos la atención acerca de la importancia de efectuar estudios microbiológicos completos de las probables puertas de entrada de la sepsis, así como la evaluación de sensibilidad y resistencia, a fin de que estos pacientes reciban una pronta y adecuada terapéutica.

Bibliografía

1. BINSZTEIN N., EIGUER T., DEPETRIS A., MAUREL D., NADER O., NOTARIO R., NOVILLO A., PICANDET A.M., RIVAS M., SZEFRER M., VERGARA, M. Enteropatógenos asociados a diarrea aguda infantil en Argentina. Medicina 47 (6):656, 1987.
2. BARRET CONNOR E. Y CONNOR, I.D. Extraintestinal manifestations of shigellosis. Am. J. Gastroenterol. 53:234-245, 1970.
3. JOKLIK W.K., WILLWUT H.P., AMOS D.B. Zinsser Microbiología, 18° Edición, Ed. Médica Panamericana S.A., 1986.
4. D'AURIA A. Shigella Bacteriemia. Clin. Microbiol. Newsletter. 18:131, 1982.
5. Manual de Investigaciones de Laboratorio de Infecciones Entéricas Agudas. OPS. Of. Reg. de la OMS. Ed. Española, 1983.

Aislamientos de *Aeromonas* spp. de niños con diarrea aguda en Posadas, Misiones

Marta Vergara, Beatriz Fronchkowsky, Marina Quiroga, Cristina González, Elizabeth Husulak. Cátedra Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología “Dr. Carlos Malbrán”.

Presentado en el V Congreso Argentino de Microbiología. Mar del Plata, 1988.

Diversos autores han señalado el rol de *Aeromonas* spp. en infecciones humanas, estando la mayoría de ellas relacionadas con exposición a aguas dulces. Consideradas ya como patógenos oportunistas en huéspedes inmunocomprometidos, en la actualidad se aíslan frecuentemente en casos de diarrea aguda en sujetos normales (1) (2).

Este trabajo informa nuestra primera experiencia en el aislamiento y caracterización de especies de *Aeromonas* en 12 pacientes menores de 5 años, con cuadro de diarrea aguda de menos de 7 días de evolución, 10 de ellos pertenecientes al Proyecto Colaborativo Multicéntrico de SECyT que se realiza actualmente en la República Argentina. Todos los niños de escaso nivel socioeconómico, con viviendas sin tratamiento adecuado de excretas y residuos, presentaron deposiciones líquidas amarillo verdosas, con leucocitos en el 80% de ellas. Los síntomas adicionales fueron: fiebre (60%), vómitos (50%) y sangre en heces (17%), ya relatados por otros autores (3).

La búsqueda de *Aeromonas* spp. se realizó a partir de colonias no fermentadoras de lactosa, de placas de cultivo primario de heces en agar Eosina-azul de metileno (EMB) y agar Salmonella-Shigella (SS) a las que se estudió: movilidad, oxidasa, hemólisis, crecimiento en CINa (6,5%), descarboxilación de lisina y ornitina, gas de glucosa, hidrólisis de esculina, producción de indol, acetilmetilcarbinol (Voges Proskauer) y desoxirribonucleasa (DNAsa), siendo definitivamente estudiadas en el Instituto Nacional de Microbiología, identificándose 10 cepas como *Aeromonas hydrophila* y 2 como *Aeromonas sobria*. Cuadro 1.

Todas las cepas presentaron por lo menos 3 marcadores fenotípicos relacionados con enteropatogenicidad: gas de glucosa, actividad hemolítica y prueba del Voges Proskauer positivas (4).

La sensibilidad se determinó por método de disco, difusión en agar (Kirby-Bauer), detectándose 100% de resistencia a ampicilina, 42% a sulfisoxazol, 17% a timentoprima-sulfametoxazol (TMS) y 17% a cloranfenicol. Una sola cepa presentó resistencia múltiple a: ampicilina, sulfisoxazol, TMS, cloranfenicol y gentamicina.

Esta primera experiencia en Misiones, nos ha llevado a la búsqueda sistemática de *Aeromonas* en gastroenteritis e infecciones en el inmunosuprimido, habiéndose incorporado, a la batería de medios existentes, el medio de agar sangre ampicilina (1%).

Cuadro 1

Nº CEPAS	I.	Mov.	SH ₂	Cit.	RM.	VP.	Ox.	HEM.	GLU.	LDC.	ODC.	ESC.	DNAsa	CLNa
6	+	+	-	+	-	+	+	+	A/g	-	-	+	+	-
4	+	+	-	+	+	+	+	+	A/g	-	-	+	+	-
2	+	+	-	+	-	+	+	+	A/g	-	-	-	+	-

Referencias: I: Indol, Mov: movilidad, Cit: citrato, RM: rojo de metilo, VP: Voges Proskauer, Ox: oxidasa, Hem: hemólisis, Glu: gas de glucosa, LDC: lisina decarboxilasa, ODC: ornitina decarboxilasa, Esc: esculina, DNAsa: desoxirribonucleasa, CLNa: crecimiento en CLNa 6,5%.

Tipificándose el primer (6) y el segundo (4) grupo de cepas como: *Aeromonas hydrophila* y el tercero (2) como *Aeromonas sobria*.

Bibliografía

1. KINDSCHUH M. y col. Clinical and biochemical significance of toxin production by *Aeromonas hydrophila*. J. Clin. Microbiol. 25(5):916-921, 1987.
2. AGGER W.A., MCCORMICK J.D., GURWITH M.J. Clinical and Microbiological features of *Aeromonas hydrophila* associated diarrhea. J. Clin. Microbiol. 21(6):909-913, 1985.
3. JANDA J.M. y col. Phenotypic markers associated with gastrointestinal *Aeromonas hydrophila* isolates from symptomatic children. J. Clin. Microbiol. 17(4):588-591, 1983.
4. AGUADO GARCIA J.M. y col. Neumonía bacteriémica por *Aeromonas hydrophila* en un paciente inmunocomprometido. Enf. Infec. y Microbiol. Clin. 2(6):270, 1984.

***Salmonella* Hadar: primeros casos humanos en la República Argentina**

Marta Vergara, Teresa Eiger, Sandra Grenón, Marina Quiroga, María Inés Caffer, Eduardo Pegels, Viviana Villalba. Cátedra Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán".

Publicado en *Infectología y Microbiología Clínica* 1(3):45-46, 1989.

Resumen

El espectro de agentes infecciosos de la diarrea aguda de la infancia se expande cada vez más y en el momento actual comprende una gran variedad de especies. De ellos se destaca *Salmonella*, tanto por su frecuencia de aislamiento como por la aparición de nuevas serovariedades.

Salmonella Hadar fue detectada en heces de 3 niños menores de 1 año, con diarrea aguda, en Posadas (Misiones) durante el desarrollo de un Proyecto Colaborativo Multicéntrico del País sobre Diarrea de la Infancia. De los tres niños residentes en la ciudad de Posadas, dos correspondieron a familias de escasos recursos que ocupan viviendas carentes de instalaciones sanitarias. El tercero, de alto nivel socioeconómico, adquirió la enfermedad en Buenos Aires, en el mismo periodo del año en que se aislaba *Salmonella* Hadar, por primera vez, en pollos de la provincia y aguas del Río Luján.

Las muestras se procesaron inmediatamente según metodología previamente descripta. Las colonias sospechosas de *Salmonella* se caracterizaron bioquímicamente y fueron definitivamente identificadas en el Centro Nacional de Referencia de Enterobacterias y *Vibrio* y confirmadas en el Centro Internacional de *Salmonella*, del Instituto Pasteur de París, siendo su fórmula antigénica 6,8: Z 10: e, n, x.

La sensibilidad a los antimicrobianos fue estudiada según el método de Kirby-Bauer de difusión en agar. Del análisis de los casos presentados, surge la importancia de estudiar correctamente los enteropatógenos aislados. Se destaca la importancia de realizar estudios tendientes a dilucidar las probables vías de transmisión a fin de colaborar con la vigilancia epidemiológica de enterobacterias.

Primeros aislamientos de *Salmonella* Zaiman en humanos

Marta Vergara, Viviana Villalba, Lidia Amer, Jorge Centeno, Oscar López, Teresa Eiguer, María Inés Caffer. Cátedra Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones.

Publicado en Revista Argentina de Microbiología 21:89-91, 1989.

Resumen

Se comunican los tres primeros casos de *Salmonella* Zaiman en niños mayores de un año, afectados de diarrea aguda infecciosa de menos de siete días de evolución, internados en el Servicio de Pediatría del Hospital R. Madariaga de la ciudad de Posadas, Misiones. Además, esta serovariedad se aisló por hemocultivo de una niña de 11 años con infección urinaria y sepsis. Esta *Salmonella* es una nueva serovariedad aislada del arroyo Zaiman que recorre zonas suburbanas de Posadas.

**Primer aislamiento de *Campylobacter jejuni* en Misiones,
importancia de su estudio en pacientes con gastroenteritis severas.**

Marta Vergara, Jorge Deschutter, Viviana Villalba, Sandra Grenón, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Cristina González.
Cátedra Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Publicado en Medicina Misiones, Vol. III, N° I, pp.19-21,1989.

Resumen

El presente trabajo informa del primer aislamiento de *Campylobacter jejuni* en un niño con diarrea aguda, internado en el Hospital Ramón Madariaga de la ciudad de Posadas, Misiones. Se trata de un paciente de dos meses de edad que en enero de 1987 presentó un cuadro de diarrea aguda, con temperatura elevada, deshidratación moderada, vómitos y 6 a 8 deposiciones diarias. El estudio microbiológico de sus heces resultó negativo para *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP), *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH), *Salmonella*, *Shigella*, *Aeromonas* y Rotavirus, aislándose como único agente *Campylobacter jejuni*. Luego de tratamiento adecuado el paciente evolucionó favorablemente.

Se destaca la necesidad de incluir la investigación de estos microorganismos en el estudio microbiológico de la Diarrea Aguda de la Infancia, a fin de contribuir a mejorar los diagnósticos etiológicos y tratamientos de esta patología.

Hallazgos bacteriológicos en infecciones pediátricas en Posadas, Misiones en el año 1988

Marta Vergara, Marina Quiroga, Sandra Grenón, Viviana Villalba, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak. Cátedra Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

Publicado en Medicina Misiones, Vol. IV, N° I, pp. 9-13,1990.

Resumen

El presente trabajo informa de la calidad y susceptibilidad de los gérmenes involucrados en la infección nosocomial durante el año 1988, en pacientes internados en el Sector Pediatría del Hospital Ramón Madariaga. Sobre un total de 1749 muestras clínicas estudiadas, se obtuvo un 23,44 % de positividad. El tipo de infección más frecuente fue heridas quirúrgicas y tejidos blandos superficiales, como es de esperar en la población pediátrica. Los agentes etiológicos predominantes fueron los bacilos gram (-) con marcada resistencia a betalactámicos y gentamicina.

Aislamiento e identificación de especies de *Campylobacter* en heces de niños en Posadas, Misiones.

Viviana Villalba, Marta Vergara, Andrés Brítez. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en el XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; VI Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires 1991.

Son numerosas las especies de *Campylobacter* (C) involucradas en distintas patologías, siendo *C. jejuni* y *C. coli* las más implicadas en diarrea humana (1), con una distribución mundial, y aislados en menor frecuencia en personas sanas. Esta zoonosis tiene en los países industrializados a los animales como reservorio, y en los países en desarrollo además al hombre (2). La vía de infección más plausible es la digestiva (3), produciéndose la diarrea por un mecanismo invasor, jugando un importante papel las enterotoxinas y citotoxinas (4).

Entre noviembre de 1989 y noviembre de 1990 se estudiaron 770 niños con diarrea, sin tratamiento previo, menores de 5 años, concurrentes al Hospital Mardariaga, y 332 niños sin diarrea, aislándose 17 cepas de *C. jejuni* y 4 cepas de *C. coli*. Las heces se procesaron para la búsqueda de enteropatógenos bacterianos, parasitarios y virales. Para el aislamiento de *Campylobacter* se cultivaron en medio Skirrow, previo enriquecimiento por 24 hs. en medio CHAN suplementado, a 37°C en atmósfera reducida, la cual se logró adaptando una olla a presión de uso doméstico. Realizado el vacío a -550 ó -650 mm. de Hg. se llena con una mezcla gaseosa (N° 171 de La Oxígena). Las cepas se caracterizaron según morfología colonial, movilidad, formas celulares, catalasa, oxidasa, sensibilidad a nalidixico, cefalotina y trifeniltetrazolio, hidrólisis de hipurato, SH₂ y urea.

La metodología usada permitió aislar 17 cepas de *C. jejuni*, 4 cepas de *C. coli* y 2 cepas de *Campylobacter* spp. (Cuadro 1). A pesar que la temperatura de incubación óptima para el crecimiento de *Campylobacter* es de 42°C, la falta de recursos del laboratorio nos obligó a trabajar a 37°C, con los resultados expuestos.

Creemos que nuestro porcentaje de recuperación sería superior trabajando a 42° C, además de ser la termotolerancia un elemento valioso en la identificación de especies.

En niños con diarrea se aislaron un 1,95% de *C. jejuni* y 0,39% de *C. coli*; en los niños sin diarrea, 0,60% y 0,30% respectivamente. Las características de las heces de los niños con diarrea fueron: semilíquidas: 8; pastosas: 4; líquidas: 1; forme: 1. Se encontraron leucocitos en 7 casos, y leucocitos y hematíes en 5. Los niños estudiados son todos de bajo nivel socio-económico, y según grupo etáreo el aislamiento fue de: en 1 a 11 meses: 1,56%, en 12 a 23: 0,65% y en 24 meses a 5 años: 0,13%. Las asociaciones se hallaron sólo para *C. jejuni*: *E. coli* ECEP: 2 ; *Giardia lamblia*: 2 ; *Shigella* B: 1. En nuestra provincia, con una tasa de morbilidad por diarrea que supera la media anual de la República Argentina (5), consideramos importante implementar el estudio de rutina de *Campylobacter* para colaborar en el diagnóstico de la diarrea infecciosa y contribuir a su control y prevención.

Cuadro 1

CEPAS	CAT ¹	Ox ²	37°C	Hip ³	TTC ⁴	NAL ⁵	CEF ⁶	SH ₇	U ⁷
10*	+	+	+	+	S	S	R	-	-
7*	+	+	+	+	R	S	R	-	-
4**	+	+	+	-	R	S	R	-	-

C. jejuni*. *C. coli*.

1- Catalasa, 2- Oxidasa, 3- Hipurato, 4- Trifeni-ltetrazolio, 5- Ácido nalidixico, 6- Cefalotina, 7- Urea.

Bibliografía

1. Terzolo H. R.: Identificación de *Campylobacter* spp. aislados de heces bovinas y ovinas. Rev. Arg. Microbiol. 20:53-60, 1988.
2. Urrestarazu M-I.: Frecuencia de *C. jejuni* y otros agentes patógenos en un grupo de lactantes venezolanos con diarrea aguda. Boletín OPS. 104:225-234, 1988.
3. Blazer M.J.: *Campylobacter* infections in man and animals. Epidemiology of *C. jejuni* infections. Epidemiol. Rev. 5:157-176, 1983.
4. Walter R. I.: Pathophysiology of *C. enteritidis*. Microbiol. Rev. 50:81, 1985.
5. Dirección de estadísticas. Ministerio de Salud Pública. Pcia. De Misiones, 1987.

Agradecimiento

Se agradece la colaboración del Dr. Rodolfo Notario de la Facultad de Medicina de Rosario por la confirmación bioquímica de nuestros aislados.

***Salmonella* en aguas de recreación de la ciudad de Posadas**

Fernando Benassi, Francisco Martinez Vazquez, Teresa Eiguer, María Alicia Martos, Marta Vergara, Silvia Bendersky. Cátedra de Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Cátedra Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Publicado en Correo de Ciencia y Tecnología de Misiones, Año 0, N°1, 1991.

Resumen

Se iniciaron investigaciones tendientes a determinar la presencia de serovariedades del género *Salmonella* en aguas de recreación pertenecientes al Balneario Municipal de la ciudad de Posadas, como una etapa previa a un estudio posterior que posibilite establecer su vinculación con afecciones entéricas de pobladores del área de influencia. A fin de determinar su incidencia en los ciclos de transmisión e infección humana, como medios de enriquecimiento se utilizaron Caldo Dulcitol Selenito y Caldo Tetrationato con agregado de novobiocina, y como medios de aislamiento se emplearon Agar Eosina Azul de Metileno y Agar Sulfito de Bismuto. La mejor combinación de medios resultó ser: Caldo Dulcitol Selenito-Agar Sulfito de Bismuto. Se aisló *Salmonella* en el 90% de las muestras examinadas. Se señala la mayor frecuencia de *Salmonella* Saphra, seguida por *S. Typhimurium* y la presencia de *S. Zaiman*, nueva serovariedad a nivel mundial recientemente aislada en nuestro país. Estas dos últimas serovariedades presentan la mayor incidencia en muestras de origen humano.

Brote por *Salmonella* Typhimurium

Marina Quiroga, Sandra Grenón, Vergara Marta, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Jorge Centeno. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones.

Presentado en 2° Congreso de la Sociedad Argentina de Infectología, 1° Congreso de Infectología Pediátrica de la Sociedad Argentina de Pediatría y 1° Simposio de Control de Infecciones, Buenos Aires 1992.

En enero de 1991 se identificó la primera *Salmonella* Typhimurium multirresistente. El caso índice del brote fue un niño de 8 meses internado en la Unidad de Cuidados Especiales (UCEP), derivado del interior de la Provincia, que fallece a las 48 hs. con un cuadro de diarrea y sepsis.

De enero a junio se aisló *Salmonella* Typhimurium con idéntico patrón de resistencia en 22 niños (recuperadas de 21 coprocultivos (c), 4 hemocultivos (H), 1 Líquido Cefalorraquídeo (LCR) y 1 herida quirúrgica abdominal). La edad de los niños afectados osciló entre 0 y 27 meses. Las cepas fueron confirmadas como *Salmonella* Typhimurium en la División Enterobacterias del Instituto Nacional de Microbiología Malbrán.

El perfil de susceptibilidad fue: SENSIBILIDAD a: Imipenem, Norfloxacin, Pefloxacin, Colistín, Neomicina, Cloranfenicol. RESISTENCIA a: Ampicilina, Ampicilina-sulbactam, TMS, Ceftazidima, Cefotaxime, Gentamicina, Netilmicina, Amicacina, Sulfisoxazol.

La secuencia de aparición de los casos, 18 (81,8%) en 6 semanas, mostró una gran concentración en dicho lapso. Los servicios pediátricos involucrados fueron: 68,3% Neonatología (Neo), 99,1% UCEP, y el resto distribuido en: Lactancia, Unidad de Cuidados Intensivos, Cirugía. La tasa de letalidad fue de 45,4%, produciéndose el 80% de las muertes en Neo.

Analizando la procedencia de los niños, 8 fueron derivados de otros Centros Hospitalario, 3 de la Comunidad, 10 de la Maternidad del Hospital y 1 se desconoce por no recuperarse la Historia Clínica.

El promedio de aparición de diarrea fue de 5 días en los niños internados por cuadros no diarreicos. Solo 2 niños no presentaron diarrea, un recién nacido sifilítico (nacido en el Hospital) con *Salmonella* Typhimurium en H y C que fallece por sepsis, y uno internado por meningitis, con *Salmonella* Typhimurium en LCR, con alta curado. Si bien no se detectaron nuevos casos en Neo en el 2° semestre del año, observamos un progresivo aumento de los mismos en otras Salas de Internación.

Destacamos:

- la edad de los niños involucrados (68% en Neo)
- alta letalidad del brote: mayor en Neo (80%)
- multirresistencia a antibióticos de uso corriente.

Comparación de seis medios de cultivos para el aislamiento de *Aeromonas* spp. de heces

Marina Quiroga, Marta Vergara, Ana Melnichuk. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en VI Simposio de Bacteriología Clínica, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina, 1992.

Aeromonas spp. (A) representa un grupo diverso de organismos potencialmente patógenos cuyo compromiso en las gastroenteritis (GE) es reconocido cada vez con mayor frecuencia (1).

A fin de comparar la eficacia de 6 medios de cultivo para el aislamiento de A de heces: Agar (Ag) Sangre Ampicilina (AgSAp) (30 mg/l), Ag Desoxirribonucleasa con Azul de Toluidina (DNT), Ag Eosina Azul de Metileno (EMB), Ag Salmonella-Shigella (SS) Agua Peptonada Alcalina (APA) y Caldo Sangre Ampicilina (CSAp) medio este último desarrollado en el Laboratorio, se estudiaron 147 muestras fecales de niños menores de 6 años consultantes al Hospital Madariaga de Posadas, por GE como única patología; aislándose A en un 8,8% (13 muestras).

La sensibilidad de los medios separados o en combinación se muestra en las Tablas I y II, respectivamente.

De los resultados concluimos que:

- El uso de medios líquidos de enriquecimiento, si bien es discutido por algunos autores (2), es de alta eficacia para la búsqueda de A en heces, aunque dificultaría diferenciar entre un cuadro de portación y un estado infeccioso.
- El AgSAp es el medio sólido óptimo para el aislamiento primario de A en heces por su accesibilidad a cualquier laboratorio. La combinación de

AgSAp con algún medio líquido de enriquecimiento (CSAp y/o APA) es de alta efectividad permitiendo una mayor recuperación de A en heces y favoreciendo la búsqueda de portadores a fin de conocer la real frecuencia e incidencia de estos microorganismos como agentes etiológicos de diarrea aguda. Sin embargo, su uso como único medio de aislamiento, podría hacer que se pierdan aquellas cepas de A susceptibles a la ampicilina.

Consideramos necesario mayores estudios para determinar que medios serían útiles para la búsqueda de A en heces, que dependerán de factores como: la población a estudiar, la frecuencia esperada de enfermedad diarreica y el factor costo-beneficio.

Tabla 1

Nº DE MUESTRAS	EMB	SS	AGSAp	DNT	CSAp	APA
7	-	-	-	-	-	+
2	-	-	-	-	+	+
2	-	-	+	-	-	-
1	-	-	-	-	+	-
1	-	-	+	-	+	-
133	-	-	-	-	-	-

Tabla 2

MEDIO	Nº POSITIVAS	%TOTAL
EMB	-	-
SS	-	-
AgSAp	3	(23,1)
DNT	-	-
CSAp	4	(30,8)
APA	9	(69,2)
APA-CSAp	11	(84,6)
ASAp-CSAp	6	(46,2)

Bibliografía

1. PAZZAGLIA G. *et al.* High Frequency of Coinfecting Enteropathogens in *Aeromonas* associated Diarrhea of Hospitalized Peruvian Infants. J. Clin. Microbiol. 29:1151-1166; 1991.
2. JANDA J.M., DUFFERY D.S. Mesophilic *Aeromonads* In human disease: Current Taxonomy, Laboratory Identification and Infectious Disease Spectrum. Rev. Infect. Dis. 10:980-997; 1988.

Identificación de enteropatógenos en la diarrea de la infancia en un estudio realizado en la ciudad de Posadas, Misiones, República Argentina

Marta Vergara; Marina Quiroga; Sandra Grenón; Viviana Villalba; Eduardo Pegels; Miriam Chade; Cristina González; Norma Binsztein; Teresa Eigner; Ariel Depetris. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Instituto de Virología "Dr. J.M. Vanella".

Publicado en Revista Latinoamericana de Microbiología, 34:71-75, 1992.

Resumen

El presente trabajo informa de los resultados de aislamiento, frecuencia y distribución de enteropatógenos en niños menores de cinco años, sin tratamiento previo con antibiótico, con menos de siete días de evolución del cuadro de diarrea, ambulatorios o internados en el Hospital "Dr. Ramón Madariaga" de Posadas, Misiones, República Argentina, entre junio de 1986 y mayo de 1989.

Del total de 972 niños con diarrea, 78% requirió posterior internación. El mayor número de casos de diarrea se registró durante la primavera y el verano, en niños de 1 a 11 meses de edad. La distribución proporcional de los principales enteropatógenos fue de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) (29,4%), parásitos (22%). *Shigella* (16,3%), *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) (14%) y rotavirus (12,9%). La mayor incidencia de rotavirus se registró en los meses más fríos y *Shigella*, ETEC, *Salmonella* y parásitos en los meses más cálidos. Los niños más afectados fueron de 1 a 11 meses de edad, con mayor incidencia de EPEC, *Salmonella* y rotavirus; y parásitos en niños mayores. ETEC y *Shigella* mostraron una frecuencia independiente de la edad.

La asociación más frecuente fue EPEC con rotavirus. Este es el primer hallazgo de *Salmonella zaiman* en humanos y de *Salmonella hadar* en Argentina. *Cryptosporidium*, agente causal de diarreas agudas en inmunocompetentes, fue aislado en 3,9% de casos.

Enteropatógenos en la diarrea infantil de la ciudad de Posadas, Misiones

Marta Vergara, Marina Quiroga, Sandra Grenón, Eduardo Pegels. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

Publicado en Infectología & Microbiología Clínica, 5(5):6-14, 1993.

Resumen

El presente trabajo informa los resultados del aislamiento, frecuencia y distribución de enteropatógenos en niños menores de cinco años, sin tratamiento antibiótico previo, con menos de siete días de evolución del cuadro de diarrea, ambulatorios e internados en el Hospital "Dr. Ramón Madariaga" de Posadas, Misiones, entre junio de 1986 y diciembre de 1990.

Del total de 1127 niños con diarrea el 70% requirió internación. El mayor número de casos de diarrea se registró durante la primavera y el verano, en niños de 1 a 11 meses de edad.

La distribución proporcional de enteropatógenos fue *Escherichia coli* enteropatógeno (EPEC) (27%), parásitos (23,7%), *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) (17%), *Shigella* (14,5%) y rotavirus (11,6%).

La mayor incidencia de rotavirus se registró en los meses más fríos, en cambio *Shigella*, ETEC, *Salmonella* y parásitos en los meses más cálidos.

Los niños más afectados fueron los de 1 a 11 meses de edad, con mayor incidencia de EPEC, ETEC, *Salmonella* y rotavirus.

Los parásitos fueron aislados con mayor frecuencia en niños mayores. *Shigella* tuvo un comportamiento independiente de la edad.

Cryptosporidium, causal de diarrea severa, fue aislado en el 3,2% de los casos.

***Escherichia coli* enteroinvasivo (ECEI): primer estudio en Posadas, Misiones.**

Sandra Grenón. Marta Vergara, Hugo Macaya. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en III Congreso Internacional de la Sociedad Argentina de Bacteriología Clínica (SADEBAC)-Antimicrobianos' 93, Buenos Aires, 1993.

La diarrea aguda, una de las tres causas principales de muerte en niños en Latinoamérica, registró en Misiones para 1990, una tasa de morbilidad de 33,6 % en niños menores de 2 años.

Entre los agentes etiológicos involucrados, ECEI, es un importante enteropatógeno, dada su capacidad de invasión, lo que provoca una respuesta inflamatoria asociada a destrucción de mucosa intestinal.

Diversos autores (1) (4) proponen, además de la presencia de leucocitos en heces, indicadores bioquímicos para la tipificación de estas cepas, de los que seleccionamos, por accesibilidad en nuestro laboratorio, las descriptas en la tabla 1.

En nuestro estudio, 48 cepas de *Escherichia coli* aisladas de muestras fecales, correspondientes a 25 casos clínicos de niños menores de 5 años de edad con enfermedad diarreica aguda, se estudiaron bioquímicamente y por ELISA (5), técnica provista por la Dra. Binsztein (INM).

La presencia de leucocitos se registró en el 82% de los casos. Ninguna de las cepas fermentó la Lactosa en BAM, ni descarboxiló la Lisina en LIA, ni produjo SH₂ en TSI (pruebas usadas como screening), completándose comportamiento bioquímico con los test descriptos en tabla 1. Todas las cepas se confirmaron como ECEI por ELISA.

La discordancia entre otros autores (1) (2) (3) (4) respecto a los resultados de lisina y movilidad en diferentes estudios, se presentó también con nuestras cepas. El 2,08% descarboxiló la lisina, en lectura de 48 hs. y el 31,25% en lectura de 96 hs. y el 12,50% fue móvil.

Consideramos necesario disponer de antisueros para poder seroagrupar las cepas y ayudar a su caracterización epidemiológica.

Destacamos la importancia del estudio microbiológico de ECEI en nuestro medio para evitar sean estas cepas diagnosticadas erróneamente como *Shigella* las que son frecuentes y con diferentes perfiles de susceptibilidad.

Tabla 1. Pruebas de tipificación bioquímica

	N	%
INDOL	48	100
ROJO DE METILO	48	100
VOGES-PROSKAUER	0	0
CITRATO DE SIMMONS	0	0
ACETATO DE SODIO	29 (11)	60,41 (22,90)
SH ₂ (EN TSI)	0	0
UREA DE CRISTENSEN	0	0
FENILALANINA	0	0
ARGININA	6 (15)	12,50 (31,25)
LISINA	1 (15)	2,00 (31,25)
ORNITINA	26 (10)	54,16 (20,80)
MOVILIDAD	6	12,50
GLUCOSA ÁCIDO	48	100
GAS	18	37,50
LACTOSA	35 (8)	72,90 (16,60)
MANITOL	43	89,50
SACAROSA	3 (1)	6,50 (2,08)
SALICINA	6	12,50
RAFINOSA	47	97,90
SORBITOL	11	22,90
ARABINOSA	46	95,80
XILOSA	44	91,60
MALTOSA	23 (6)	47,90 (12,50)

() Reacciones tardías. N: Número total de cepas positivas.

%. Porcentaje total de reacciones positivas.

Bibliografia

1. SILVA R., TOLEDO R., TRABULSI L. Biochemical and Cultural Characteristics of invasive *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 1(5):441-444, 1980.
2. FAUDEZ G., FIGUEROA G., TRONCOSO M., CABELLO F.C. Characterization of enteroinvasive *Escherichia coli* strains isolated from children with diarrhea in Chile. J. Clin. Microbiol. 26(5): 928-932, 1988.
3. TRABULSI L., TOLEDO R., PRADO V. *Escherichia coli* enteropatogénica Ade1. Microbiol. Enf. Infecc. 3:62,1984.
4. ECHEVERRIA P., SETHABUTR O., PITARANGSI C. Microbiology and diagnosis of infections with *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli*. Rev. Infec. Dis. (Suppl 4):S220-5. 1991.
5. PAL T., PACSA A.S., EMODY L., VOROS S., SHELLEY E. Modified enzyme-linked immunosorbent assay for detecting enteroinvasive *Escherichia coli* and virulent *Shigella*. J. Clin. Microbiol. 21:415-18, 1985.

La diarrea aguda infantil en una Provincia de Argentina

Marta Vergara, Marina Quiroga, Sandra Grenón, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Norma Binsztein. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán".

Presentación oral en IV Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología, I Congreso de Medicina Tropical, La Habana, Cuba, 1993.

El estudio de la diarrea (D) en Posadas, capital de Misiones, zona de clima subtropical cálido con tasa de morbilidad infantil de 33,6%, se inicia con la evaluación, en 1127 niños, de enteropatógenos (EP) reconocidos en 61,1% de los casos distribuidos en *Salmonella* 2,8%; *Shigella* 14,5%; *Escherichia coli* enteropatógeno (EPEC) 26,9%; *E. coli* enterotoxigénico (ETEC) 16,9%; *Aeromonas* 3,1%; Rotavirus 11,6%; Parásitos 23,7%. La clínica de la D se analizó comparando niños internados con ambulatorios destacándose prevalencia de ETEC productor de toxina termoestable (ST) y la asociación ETEC-Rotavirus en internados como también severa diarrea asociada a *Shigella* y a aglactación precoz en este mismo grupo. En seguimiento epidemiológico durante 2 años en dos comunidades de diferente grado de pobreza, el n° de episodios de D y la frecuencia de EP bacterianos fue significativamente mayor en la de pobreza más crítica (expuesta al factor de riesgo agua de consumo por ser ribereña a cursos de aguas contaminados) siendo importante (26,4%) los niños que presentan infecciones sintomáticas y asintomáticas por ETEC-LT (productor de toxina termolábil), dándose la infección única por ETEC en las edades de 0 a 11, 12 a 23 y 36 a 65, y la reinfección en 24 a 35 meses prioritariamente. Factores de colonización (CFA) de ETEC fueron más frecuentes en sintomáticos, incrementándose los títulos de anticuerpos anti-LT, CFA/I y CFA/II, con la edad, destacándose que la infección natural por ETEC en área endémica, estimula la respuesta sérica a los factores de virulencia LT y CFA.

Estudio de colonización intestinal por *Aeromonas* en niños durante el primer año de vida

Marina Quiroga, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología-
Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.
Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en VII Congreso Argentino de Microbiología.
Buenos Aires, 1995.

La importancia de las especies de *Aeromonas* (A) como potenciales patógenos intestinales es aún controvertida.

En un estudio de colonización, infección y reinfección intestinal por diferentes enteropatógenos (EP) en 50 niños, desde su nacimiento hasta el primer año de vida, analizamos la aparición de *Aeromonas* y su relación con la enfermedad diarreica.

La recolección de heces se realizó cada 14 días y en cada episodio diarreico, siendo visitados los niños bisemanalmente por trabajadores sociales.

Se utilizó metodología estándar para la búsqueda de *Aeromonas*. La presencia de adhesinas se investigó por la técnica de precipitación con diferentes concentraciones de Sulfato de Amonio (Salting out, SO) y por hemaglutinación con glóbulos rojos humanos Grupo O y su inhibición con diferentes azúcares: Manosa (M), Galactosa (G) y Mucosa (F), (1).

Se recuperaron 22 cepas correspondientes a 14 de los 50 niños (28%), todos ellos asintomáticos. No se encontraron asociaciones con otras EP. No se aislaron *Aeromonas* en episodios diarreicos.

Se identificaron 14 cepas de *A. caviae* (64%), 4 *A. hydrophila* (18%), 2 *A. veronii* biov. *veronii* (9%) y *A. veronii* biov. *sobria* (9%).

El mayor porcentaje de recuperación se dio a partir de los 6 meses de edad, a excepción de un caso en que se aisló *Aeromonas* en un niño de tan solo 15 días que nunca fue amamantado, reiterándose este aislamiento a los 8 meses de edad.

El pico de estacionalidad ocurrió durante los meses calidos (Diciembre-Enero).

En el momento de la recuperación de *Aeromonas* en las heces de los niños involucrados habían dejado de mamar o tenían alimentación mixta.

Al investigar el poder de hidrofobicidad, la capacidad de hemaglutinación y los patrones de inhibición de la misma, ninguna cepa expresó SO (+). De las 22 cepas en estudio, 17 no hemaglutinaron y 5 mostraron los siguientes patrones:

F+M+G+	<i>A. caviae</i>	(2 cepas)
	<i>A. veronii</i> biov. <i>veronii</i>	(1 cepa)
	<i>A. hydrophila</i>	(1 cepa)
F-M+G-	<i>A. caviae</i>	(1 cepa)
+: Hemaglutinación Resistente, -:Hemaglutinación Sensible.		

Concluimos:

- El porcentaje de aislamiento de *Aeromonas* en niños asintomáticos en Posadas es similar al encontrado en niños de Thailandia (2).
- Concordando con Altwegg (3}, *A. caviae* es la especie más frecuentemente recuperada en niños.
- El destete o el inicio de la alimentación mixta, así como la ausencia de amamantamiento parecen favorecer la colonización por estos gérmenes, donde el agua utilizada para la preparación de las fórmulas lácteas u otros alimentos sería la vía mas probable.
- Posteriores estudios de enterotoxigenidad nos permitirán considerar la presencia de hemaglutininas como factores de virulencia en *Aeromonas*.

Bibliografia

1. BURKE V. *et at.* Hemagglutination patterns of *Aeromonas* spp. in relation to biotype and source. J. Clin. Microbol. 19:39-43, 1984.
2. DEODHAR L. *et at.* *Aeromonas* spp. and association with human diarrheal disease. J. Clin. Microbiol. 29:853-6, 1991.
3. ALTWEGG M. *Aeromonas caviae*: an enteric pathogen? Infection. 13:228-30, 1985.

***Aeromonas* spp. en la enfermedad diarreica aguda: 10 años de estudio**

Marina Quiroga, Liliana Lubaczewski, Marta Vergara.
Universidad Nacional de Misiones.

Publicado en *Pediatría Activa*, Volume 1, Número 6, pp.4-5,
1997.

Los microorganismos del género *Aeromonas* (A) son considerados potencialmente patógenos e involucrados como agentes etiológicos de una gran variedad de infecciones y brotes alimentarios.

Cuando se analiza su rol enteropatogénico, este género ha sido y es aún, tema de controversia.

Numerosos investigadores han intentado clarificar esta circunstancia a través de estudios epidemiológicos, sin embargo la lectura de ellos, fundamentalmente permite aceptar que *Aeromonas* spp. cumple un rol patogénico en gastroenteritis dependiendo de la región, la población seleccionada, la estación de muestreo y la metodología que se utilice para su estudio.

Por lo tanto, se hace necesario intensificar el estudio de estos microorganismos para establecer su participación como agentes etiológicos de diarreas en un área determinada, ya que no es válida la extrapolación de datos provenientes de investigaciones en otras poblaciones.

Es por ello que iniciamos la primera experiencia de búsqueda de estos microorganismos en nuestra provincia.

En la ciudad de Posadas, Misiones, en un período de 10 años (Junio 1986 a Junio 1996) se procesaron 1412 muestras fecales de niños menores de 2 años de edad para la búsqueda de *Aeromonas* spp. El 79,5% de las heces estudiadas (1122

muestras) provenían de niños sintomáticos, el 20,5% (290 muestras) de niños asintomáticos.

Fueron recuperadas especies de *Aeromonas* en el 3,2% (45/1412) de las muestras fecales estudiadas, 2,5% (27/1122) de heces diarreicas y 6,2% (18/290) de heces de niños sin diarrea ($p<0,05$).

Al comparar los aislamientos en niños sin diarrea respecto a los sintomáticos, los mismos fueron más frecuentes en los primeros, con edades comprendidas entre 0 y 5 meses y 6 a 11 meses ($p<0,05$ para ambos). En los niños mayores (12-24 meses) solo se detectaron cepas de *Aeromonas* en sintomáticos. La especie más frecuentemente detectada en niños sintomáticos fue *A. hydrophila* (18/27) ($p<0,05$), mientras que asintomáticos fue *A. caviae* (11/18) ($p<0,05$).

La distribución de los aislamientos fue independiente del período estacional (22 cepas en primavera-verano vs. 23 cepas en otoño-invierno).

En el 37% (10/27) de las heces diarreicas investigadas donde se aisló *Aeromonas* spp., estas se encontraban asociadas (3 a *E. coli* enterotoxigénica [ECET] productora de toxina termoestable [ST], 1 a ECET productora de toxina termolábil y termoestable [LT/ST], 1 a *Shigella*, 1 a Rotavirus, 1 a *Salmonella*, 2 a *Giardia* y 1 a *Strongyloides* y *Ascaris*). En el 11,1% (2/18) de las heces no diarreicas, *Aeromonas* se hallaban asociadas (1 a *Strongyloides* y *Giardia* y 1 a *Giardia*).

Analizando los resultados obtenidos en este trabajo, los mismos muestran que *Aeromonas* spp., son gérmenes de aislamiento más frecuente (con diferencias significativas) en niños (menores de 2 años de edad) sin diarrea que en sintomáticas de la ciudad de Posadas, lo que pone de manifiesto una alta colonización.

Teniendo en cuenta este análisis y en el marco de la atención primaria de la salud (APS), consideramos que en nuestra área de trabajo, incluir el estudio de *Aeromonas* en el protocolo de análisis convencional del coprocultivo alteraría sensiblemente la relación costo/beneficio (muy alto costo para un escaso beneficio), relación necesaria para los servicios de salud en regiones en vías de desarrollo.

Esta propuesta se ve sustentada además por el hecho de que 37% de las 27 cepas aisladas en diarreas se encontraban asociadas a algún agente de patogenicidad reconocida en gastroenteritis (*Escherichia coli* enterotoxigénica productora de toxina termoestable (ECET-ST), *Shigella*, *Salmonella*, etc).

Por lo anteriormente apuntado, es de interés la discusión de si estas cepas participaban o no en el proceso diarreico o si fueron el aislamiento concomitante de un colonizante con un patógeno intestinal reconocido. Sí es sumamente indispensable mantener la vigilancia sobre la búsqueda de estas cepas en el medio ambiente y en el hombre, dado que podrían actuar como reservorios genéticos y diseminación de un grupo heterogéneo de enzimas hidrolizantes y transmitir resistencia a betalactámicos, en especial carbapenemes (comunicación del grupo de trabajo en 7th International Congress for Infectious Diseases, Hong Kong, 1996).

En nuestra área de trabajo, *Aeromonas* spp. se encuentran en los cursos de agua que surcan la ciudad, siendo frecuente su recuperación (Cátedra de Microbiología Industrial. Universidad Nacional de Misiones. Benassi y col. comunicación personal).

La adquisición de estas cepas, en nuestra zona, como colonizantes del tracto intestinal, podría deberse al uso de agua con una alta concentración de estos microorganismos, más aún teniendo en cuenta que estos gérmenes pueden resistir la cloración.

Sin embargo el reconocimiento de estos microorganismos en muestras fecales, cobra importancia en pacientes con riesgo de bacteriemia (inmunocomprometidos, cirróticos, etc.).

Analizando la distribución etaria de los hallazgos, observamos un porcentaje de aislamiento de *Aeromonas* relativamente elevado en todos los grupos etarios incluídos en este estudio e independiente de la edad. Estos porcentajes son semejantes a los obtenidos para *Salmonella* en un estudio realizado en 972 niños con diarrea de la ciudad de Posadas y mayores que los obtenidos para *Shigella* en un estudio prospectivo de enteropatógenos en dos comunidades de Misiones, ambos trabajos realizados en poblaciones comparables con las del presente trabajo.

Analizando la frecuencia de aislamiento con la estacionalidad, la observación de que la recuperación de *Aeromonas* fue independiente de las estaciones, se explica teniendo en cuenta que nuestra área de trabajo es una zona de clima subtropical cálido con una temperatura media anual de 21°C, sin importantes diferencias estacionales, tanto térmicas como climáticas (primavera-verano respecto otoño-invierno).

Los resultados aquí presentados sugieren que deberían profundizarse estudios que involucre la investigación de mecanismos de patogenicidad asociados a enfermedad diarreica, sinergismo entre patógenos y respuesta serológica a la infec-

ción, con la finalidad de aportar al esclarecimiento del rol de estos microorganismos cuya participación en gastroenteritis, es aún controvertido.

En la actualidad, nuestro grupo de trabajo se encuentra abocado al estudio de factores de virulencia de *Aeromonas* spp., como así también a la acción de algunos antimicrobianos en concentraciones sub-inhibitorias sobre dichos factores. Resultados preliminares, ya fueron comunicados en esta presentación.

Análisis estadístico: fue llevado a cabo por el método de análisis de hipótesis de existencia de diferencias estadísticamente significativas entre proporciones con un nivel de significación del 5%.

Aislamiento y tipificación del genero *Aeromonas* en muestras de origen clínico y ambiental

Fernando Benassi, Bibiana Martín, Marina Quiroga, Myriam García, Martha von Specht, Amanda Pucciarelli, Emilce Zubreski, Marcelo Salvi, Gabriel Gutkind. Fac. de Cs. Ex., Qcas. y Nat, UNaM. Fac. de Fcia y Bqca, UBA, Bs. As.

Presentado en Jornadas de Investigación Científica, Posadas, Misiones, Argentina, 1999.

Introduccion

El género *Aeromonas* comprende bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, autóctonos de ambientes acuáticos. En humanos, pueden ser responsables de gastroenteritis y enfermedades extraintestinales severas.

Algunos miembros de este género, particularmente *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* y *Aeromonas caviae* son reconocidos como agentes causales de gastroenteritis en humanos y de infecciones en pacientes inmunocomprometidos, las que pueden progresar a septicemia.

La mayor parte de las infecciones humanas causadas por *Aeromonas* se atribuyen al consumo de aguas y alimentos contaminados.

Como etapa inicial de un Proyecto que se propone relevar las patrones de susceptibilidad a β -lactámicos e investigar la producción de β -lactamasas, constituyó nuestro objetivo aislar y caracterizar *Aeromonas* en muestras de origen clínico (materia fecal) y ambiental (aguas de arroyos y pollos frescos).

Materiales y metodos

La toma de muestras se realizó por el método de enriquecimiento de las gasas de Moore y los del lavado y molido para aguas y pollos respectivamente. El enri-

quecimiento se efectuó en agua de peptona alcalina (APA) de pH 8,5, siguiendo la técnica del doble enriquecimiento recomendada por la OMS y el aislamiento en agar *Pseudomonas* - *Aeromonas* (GSP). Las heces fueron sembradas en agar sangre (AS) y agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa (TCBS) previo enriquecimiento de 8 hs en APA.

A las colonias seleccionadas se les practicó pruebas de oxidasa, sensibilidad al vibrioestático O-129, gelatinasa, desoxirribonucleasa (DNAsa) y movilidad en medio SIM (sulfhidrido-indol-movilidad).

Se consideraron como pertenecientes al género *Aeromonas*, las bacterias móviles, resistentes al O-129 y productoras de gelatinasa y DNAsa. La identificación de especies se realizó utilizando el esquema: "Aerokey II", propuesto por Carnahan y col.

Resultados

Los aislamientos de *Aeromonas* spp de muestras clínicas correspondieron en un 68% a heces diarreicas y un 32% a heces no diarreicas. La frecuencia de aislamiento por especie fue:

- A. hydrophila* (44%)
- A. caviae* (26,5%)
- A. veronii* biov. *sobria* (23,5%)
- A. veronii* biov. *Veronii* (3%)
- A. schubertii* (3%).

La distribución en muestras de origen ambiental fue la siguiente:

- a. Aguas de arroyos:
 - A. hydrophila* (41%),
 - A. veronii* biov. *sobria* (33%)
 - A. caviae* (26%);
- b. Pollos:
 - A. caviae* (65 %),
 - A. veronii* biov. *sobria* (27%)
 - A. hydrophila* (6 %)
 - A. schubertii* (2%).

Discusion

Los resultados obtenidos mostraron que *A. hydrophila* fue la especie mas frecuentemente aislada en muestras de origen humano y de agua de arroyos. Mientras que en muestras de eviscerados de pollo (origen alimentario) la especie mas frecuente fue *A. caviae*.

En este estudio *A. caviae*, considerada una especie de menor virulencia ocupó el segundo lugar en frecuencia de aislamiento en muestras humanas. Sin embargo, el 85% de todos los aislamientos clínicos debidos a *Aeromonas*, fueron causados por las especies *A. hydrophila*, *A. veronii* biov. *sobria* y *A. caviae*.

Estos resultados parecen indicar que la infección resultante de la exposición a un medio ambiente contaminado por *Aeromonas* (agua, suelo, alimentos) no es un evento azaroso y requiere una colonización efectiva con cepas que tienen necesariamente propiedades patogénicas.

En cuanto a métodos de toma de muestra empleados en la recuperación de *Aeromonas* a partir de pollos, el método del lavado presentó un mayor grado de eficiencia, en relación con el de molido, en forma concordante con lo hallado por otros autores. Los mayores porcentajes de colonias confirmadas correspondieron al segundo enriquecimiento. Del análisis estadístico y considerando los valores medios se deduce que la mejor combinación para la toma de muestras resultó: método del lavado - segundo enriquecimiento.

Distribución serológica de cepas de *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP) en niños asintomáticos de Posadas, Misiones

Marina Quiroga, Elizabeth Husulak, Susana Bruno, Eduardo Pegels, Rosanna Stefañuk, María Gabriela Cáceres, Margarita Laczeski, Carlos De Lima, Erika Lehman, Marta Vergara-
Universidad Nacional de Misiones. ANLIS “Dr. Carlos Malbrán”, Buenos Aires.

Presentado en IV Jornadas Internacionales de Enfermedades Transmisibles. Esperanza, Santa Fe, Argentina, 2000

Históricamente, ECEP fue definida como una categoría de *E. coli* perteneciente a ciertos serogrupos asociados a brotes de gastroenteritis infantil. Los serogrupos denominados “clásicos” (O26, O55, O86, O126, O128, O158, O111, O114, O119, O127, O142) raramente afectan a niños mayores de 1 año, estando más asociados a diarreas en menores de 6 meses.

Con el objetivo de conocer los serogrupos de ECEP más frecuentes en niños asintomáticos de nuestra zona se estudiaron 64 casos. Las cepas, recuperadas de heces de niños desde su nacimiento y durante los primeros 20 meses de vida, se identificaron como ECEP por sondas moleculares. La seroagrupación se realizó por aglutinación en placa con antisueros monovalentes provistos por el ANLIS y pertenecientes a los serogrupos: O111, O26, O55, O86, O119, O124, O113, O127, O126, O44, O142, O114, O112ac, O112ab, O128, O158 y O157.

Observamos que:

- En el 59,4% de los casos se detectaron alguno de los serogrupos investigados y en el 7,8% se presentaron asociaciones entre dos serogrupos.
- En el 40,6% se identificaron 1 o 2 serogrupos reconocidos como clásicos o de clase 1, siendo los más frecuentes: O127 (12,5%), O119 (10,9%) y O55 (6,3%).

- En el 10,9% de los niños menores de 6 meses (7 casos) se detectaron los serogrupos clásicos: O127, O119, O55 y en el 26,6% de los niños menores de 1 año (incluidos los menores de 6 meses) los serogrupos clásicos: O127, O119, O114, O55, O158.

Concluimos:

- La presencia de cepas ECEP pertenecientes a serogrupos históricamente asociados a diarrea infantil identificadas en niños asintomáticos, indicaría la existencia de un ambiente altamente contaminado.
- Nuestros resultados sugieren que ni la detección de ECEP por sondas genéticas ni el seroagrupamiento por sí solos, permiten aclarar el rol de estos microorganismos en la enfermedad diarreica, siendo necesarios mayores estudios para su mejor comprensión (marcadores adicionales, otros determinantes de virulencia) y fundamentalmente la clínica.

Twenty year study of the occurrence of reovirus infection in hospitalized children with acute gastroenteritis in Argentina

Miguel Giordano, Laura Martínez, María B. Isa, Leonardo Ferreyra, Fernando Canna, Jorge Paván, Mirta Paez, Marta Vergara, Rodolfo Notario, Silvia Nates. Instituto de Virología Dr. J. M. Vanella. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Hospital Pediátrico del Niño Jesús. Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Córdoba. Hospital Dr. R. Madariaga. Ministerio de Salud de la Provincia de Misiones. Misiones. Hospital de Niños V. J. Vilela. Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe. Rosario. Argentina.

Publicado en *Pediatr Infect. Dis. J.*, 21(9):880-2, 2002.

Summary

We studied the occurrence of reovirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in Argentina during a 20-year interval (1981 through 2001). Three of 2854 (0.10%) stools were positive for reovirus but negative for adenovirus, astrovirus and rotavirus. Children infected with reovirus were <1 year old; one had meningoencephalitis in addition to gastroenteritis. This study indicates that reovirus is an uncommon cause of childhood gastroenteritis requires medical assistance.

***Escherichia coli* enteropatógena (ECEP): típica (T) y atípica (A)**

Patricia Oviedo, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. UNaM

Presentado en 2º Jornadas de Investigación Científico Tecnológica de la UNaM y 4º Jornadas de Investigación Científico Tecnológica de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Posadas. Misiones. Argentina. 2003.

Estudios genéticos y epidemiológicos de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) condujeron a que esta categoría, esté compuesta por dos tipos: (ECEP T) y (ECEP A), que difieren en varias características. ECEP T, es la causa principal de diarrea en países en vías de desarrollo, siendo ECEP A la que presenta una alta prevalencia en los países industrializados. La primera posee un reservorio solo en humanos, mientras que la segunda se la pudo aislar de humanos y animales. También difieren en características genéticas, serotipos y factores de virulencia.

El objetivo del presente trabajo es conocer si existen diferencias en cuanto al comportamiento frente a los antimicrobianos, entre ambos grupos. Se determinó la susceptibilidad a ampicilina (AMP), ampicilina-sulbactama (AMS), cefalotina (CEF), cefotaxima (AMC), gentamicina (GEN), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS). La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) fue realizada por el método de dilución en agar, y los controles de calidad y "breakpoints" utilizados para el análisis fueron los recomendados por el NCCLS.

15 cepas de ECEP T y 25 cepas de ECEP A fueron seleccionadas para este estudio. Los porcentajes de resistencia en ECEP T Y ECEP A fueron: AMN 83.3%-79.2%; TMS 66.7% -58.1%; AMS 66.7%-33.3%; CEF 16.7%-0%; GEN 0%-24%; AMC 0%-16.6%, respectivamente.

La baja actividad de AMN y TMS puede deberse al indiscriminado uso de estos agentes en la comunidad. GEN, AMC, y CEF no presentaron valores importantes de resistencia.

Podemos concluir que si bien se observa un leve incremento en la resistencia a AMN, AMS, CEF, en las ECEP T con respecto a las ECEP A, no hemos encontrado diferencias significativas, en cuanto al comportamiento de ambos grupos frente a los antimicrobianos

FACTORES DE VIRULENCIA

Serotipos de *Escherichia coli* enterotoxigénico en Argentina

Norma Binsztein, Marta Rivas, Ida Ørksov, Daniel Laurel, Olga Nader, Rodolfo Notario, Esther Patrino, Ana María Picandet, Maritzia Szefner, Marta Vergara. Secretaria de Ciencia y Técnica. Argentina. Statens Seruminstitut. Dinamarca.

Presentado en el XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; VI Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires. 1991.

Las cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas (ECET) son productoras de dos clases de enterotoxinas, la lábil (LT) y/o la estable (ST) al calor y la síntesis de ambas es plásmido dependiente, lo cual ha llevado a postular que cualquier serotipo de *E. coli* podía ser toxigénico. Sin embargo, Ørksov y col (1) demostraron que las cepas ECET están asociadas a un pequeño número de serotipos, algunos como el O6:K15:H16, O78:H11, O78:H12, presentan una amplia distribución mundial. En cambio, otros han sido descriptos en áreas focalizadas, el O159:H- en Japón, el O139:H28 y el O63:H- en Brasil (2) y el O153:H45 en España (3) y Chile (4).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el serotipo y la distribución geográfica de cepas ECET aisladas de niños con diarrea en Argentina.

Se estudiaron 114 cepas ECET aisladas de 1211 niños con diarrea, menores de 4 años, durante 18 meses en 7 centros de salud ubicados en distintas zonas de la Argentina. De cada niño se ensayaron 5 colonias de *E. coli* en cuanto a la capacidad de producir LT y/o ST, utilizando la prueba de gangliósido GM1-ELISA. La serotipificación se efectuó a una sola colonia productora de toxina.

De 18 cepas LT/ST, 13 pertenecieron al serogrupo O6 y 12 de ellas (66,6%) al mismo serogrupo O6:K15:H16. Las 25 cepas ECET-LT se distribuyeron entre 14 diferentes grupo O y 19 serotipos. Entre las cepas ECET-ST los serogrupos más comunes fueron O20, O78, O128 y O153, que se encontraron en 54/71 (76%). En el grupo O20 se identificaron 4 serotipos diferentes y en 3 en el O78, siendo los

más comunes O20:K+:H32 y O78:H12, ninguno de ellos descritos ni en Brasil ni en Chile. El serotipo O153:H45 se demostró en 11/71 (15,5%) cepas ECET-ST, siendo uno de los más comunes en Chile y España, no encontrándose en otras partes del mundo, por lo que se sugirió representa un serotipo especial español-latinoamericano.

Algunos serotipos fueron aislados más frecuentemente en algunas zonas del país que en otras: 11/14 O128:H21 provenían de Rosario y 6/7 O20:K+:H32 de Mar del Plata. Los serotipos O153:H45 y H⁻ se identificaron más frecuentemente en cepas aisladas de Posadas, Rosario y La Plata.

Se destaca:

Las cepas ECET-LT pertenecen a un grupo numeroso de serogrupos. En cambio las LT/ST y las ST están circunscriptas a un número limitado de grupos O.

El aislamiento del serotipo O153:H45 confirma lo descrito en Chile y España.

Existe en Argentina, una regionalización para cierto serotipos.

Bibliografía

- ØRKSOV F., ØRKSOV I. *et al*: Special *Escherichia coli* serotypes among enterotoxigenic strains from diarrheal in adults and children. Med. Microbiol. Immunol. 162:73-80, 1976.
- REIS M.H.L., MATOS D.P. *et al*: Relationship among enterotoxigenic phenotypes, serotypes, and sources of strains in enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infect. Immun. 28:24-27, 1970.
- BLANCO J., GONZÁLEZ E.A. *et al*: Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains on outbreaks and sporadic cases of diarrhea in Spain. Eur J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8:396-400, 1989.
- AGUERO M.E., REYES L. *et al*: Enterotoxigenic *Escherichia coli* in a population of infants in Chile. J. Clin. Microbiol. 22:576-581, 1985.

Factores de colonización de *Escherichia coli* enterotoxigénico en niños con y sin diarrea.

Mabel Jouve, Gloria Viboud, Norma Binsztein, Marta Rivas, Marta Vergara, Sandra Grenón, Marina Quiroga, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Universidad Nacional de Misiones (Argentina). Universidad de Göteborg (Suecia).

Presentado en el XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; VI Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires 1991.

Escherichia coli enterotoxigénico (ETEC), además de producir las toxinas lábil (LT) y/o estable (ST) al calor, pueden expresar factores de colonización (CFAs) responsables de la adherencia y colonización al epitelio intestinal.

Los CFAs mejor caracterizados son: CFA/I, CFA/II y CFA/IV (1,2,3). CFA/I es un antígeno fimbrial simple, mientras que CFA/II y CFA/IV son antígenos complejos. Las cepas que expresan CFA/II poseen una combinación de antígenos asociados a la superficie de coli (CS): CS1/CS2, CS2/CS3, ó CS3 sólo. La composición de CFA/IV puede ser CS4/CS6, CS5/CS6 ó CS6 sólo.

En este trabajo se estudió la presencia de CFA/I, CFA/II y CFA/IV en cepas ECET aisladas de materia fecal (MF) en un estudio prospectivo realizado en 152 niños menores de 6 años, de dos comunidades de la provincia de Misiones.

De cada niño la muestra de MF se obtuvo cada 3 meses, registrándose simultáneamente la presencia o no de diarrea. Además, de ambos barrios, se tomó una muestra de MF a 109 niños con diarrea.

Para la identificación de los CFAs se emplearon las técnicas de aglutinación, inmunodifusión y/o dot blott, usando anticuerpos monoclonales y antiseros policlonales. A todas las cepas que resultaron CFA negativas, se determinó la hemaglutinación resistente a la manosa (HRM) frente a eritrocitos de varias especies, y su poder de hidrofobicidad por la técnica de "salting out" (SO).

Fueron procesadas un total de 647 MF, de las cuales 499 correspondieron a niños asintomáticos y 148 a diarreas. Se determinó la presencia de CFAs en 71 cepas ECET del grupo asintomático y en 46 de los niños con diarrea.

Se detectó CFA en 11/46 ECET (24%) aisladas de los casos sintomáticos. El CFA identificado con mayor frecuencia fue CFA/I (13%), seguido de CFA/IV (9%) y CFA/II (2%). La distribución de los CS para CFA/IV fue: 3 cepas CS6 y 1 CSS/CS6; y para CFA/II sólo 1 cepa CS2/CS3. Todas las cepas CFA/I y CFA/II fueron productoras de ST, mientras que la cepa CS2/CS3 fue ECET-LT/ST.

De las 71 cepas ECET identificadas en MF de niños asintomáticos, 6 (8,4%) expresaron CFA/I, CFA/II o CFA/IV, cada uno con igual frecuencia (2,8%). Todas las cepas reconocidas como positivas para CFA/I fueron ECET-ST, las CFA/II (CS1/CS3) expresaron LT/ST Y las CFA/IV (CS6) LT. De las 32 cepas ECET asociadas a diarrea y CFA negativas, 16 (46%) fueron positivas en los ensayos de HRM y/o SO, mientras que 21/64 (33%) ECET aisladas de infecciones asintomáticas manifestaron esas características.

En conclusión:

- La frecuencia de CFAs fue mayor en las cepas ECET asociadas a diarrea que en las aisladas de niños asintomáticos ($p<0,05$).
- La relativa baja frecuencia de ECET-CFA+ encontrada (14%) respecto a otras publicaciones, podría estar relacionada a la alta proporción de cepas ECET-LT diagnosticadas en este estudio, las cuales raramente expresan CFA/I, CFA/II ó CFA/IV. Esto enfatiza la necesidad de continuar con la búsqueda de “nuevas adhesinas”.

Bibliografía

- EVANS D.G., EVANS D.J. *et al*: Detection and characterization of colonization factor of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from adults with diarrhea. *Infect. Immun.* 19:727-736, 1978.
- EVANS D.G., EVANS D.J.: New surface-associated heat-labile colonization factor antigen (CFA/II) produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* of serogroup O6 and O8. *Infect. Immun.* 21:656-667, 1978.
- THOMAS L.V., MCCONNELL M.M. *et al*: The possession of three novel coli surface antigens by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains positive for the putative colonization factor PCF8775. *J. Gen. Microbiol.* 131:2319-2326, 1985.

Evaluación de anticuerpos séricos anti factores de virulencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico en niños de dos comunidades en Misiones Argentina.

Marta Rivas, Norma Binsztein, Gustavo Basanta, Marina Quiroga, Sandra Grenón, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Universidad Nacional de Misiones. Argentina. Universidad de Göteborg. Suecia.

Presentado en el XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; VI Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires 1991.

La evaluación de los niveles de anticuerpos (Ac) contra distintos antígenos de *E. coli* enterotoxigénico (ECET) permitiría establecer el rol protector de los mismos en las infecciones y reinfecciones por este agente, sobretudo en áreas endémicas. Este conocimiento sería de gran utilidad para el desarrollo de una futura vacuna. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta inmunológica a algunos de los factores de virulencia de ECET: enterotoxina lábil al calor (LT) y factores de colonización CFA/I y CFA/II.

Se estudiaron 56 niños de 0 a 6 años de edad que habitaban a orillas del arroyo Zaimán (Z). La población de este barrio, de bajo nivel socioeconómico, utiliza el agua del arroyo para consumo, prácticas higiénicas y recreación. Como grupo control se seleccionaron 28 niños, del mismo grupo etario y nivel socioeconómico, del barrio Las Dolores (LD), quienes no utilizan las aguas del arroyo. Al comienzo del estudio y luego a los 3 meses se tomaron muestras de materia fecal (MF) para el estudio de enteropatógenos bacterianos, parasitarios y virales. Se registró la presencia de diarrea concomitante. Simultáneamente se tomaron muestras de sangre para la titulación de Acs a-LT, a-CFA/I y a-CFA/II.

De cada muestra de MF, 6 colonias identificadas como *E. coli* se estudiaron para la producción de enterotoxina LT por GM1-ELISA. La titulación de Acs a-LT, a-CFA/I y a-CFA/II fue realizada por ELISA (1). En aquellas muestras que presentaron seroconversión ≥ 4 para a-CFA/II, se estableció la característica de estos Acs (a-CS1+CS3, a-CS2+CS3 ó a-CS3) por ELISA.

El número de casos de diarrea fue semejante en ambas comunidades, sin embargo en Z hubo una mayor asociación con ECET.

En los niños de Z se observó un aumento de los títulos de Ac con el aumento de la edad, los valores máximos para a-LT y a-CFA/I se encontraron en el grupo de 24-35 meses y para a-CFA/II en el de 36-65 meses. En los niños de LD el comportamiento fue similar pero con títulos máximos para a-CFA/I y a-CFA/II en el grupo de 35-65 meses. En las muestras del 2do relevamiento hubo aumento de los títulos a-LT en los grupos de 0-11 meses y 12-23 meses en Z y en los niños de 12-65 meses en LD, posiblemente por exposición reiterada a ECET-LT. Al comparar la magnitud de la respuesta inmunológica, una seroconversión (SC) ≥ 4 para a-LT se observó en 20/56 (35,7%) en Z, mientras que solo en 4/28 (14,3%) en LD ($p < 0,05$). En cambio las diferencias no fueron significativas para a-CFA/I ni a-CFA/II, ya que 16/56 (28,6%) en Z y 5/28 (17,9%) en LD presentaron SC para a-CFA/I y 12/56 (21,4%) en Z y 7/28 (25%) en LD para a-CFA/II. En 10/12 niños de Z con SC para a-CFA/II la composición fue a-CS3 en 5 niños, a-CS2+CS3 en 3 y a-CS1+CS3 en 2, mientras que en 6/7 niños de LD la composición fue CS2+CS3.

Conclusiones

- La respuesta inmunológica sérica a los anticuerpos más relevantes de ECET fue frecuente en los niños de ambas comunidades.
- Los títulos de Ac a-LT, a-CFA/I y a-CFA/II se incrementaron con el aumento de la edad, alcanzando en general, los valores máximos en el 2do año de vida.
- El hecho de encontrar una diferencia significativa en el SC para a-LT en Z respecto a LD, indicaría que esos niños sufrirían una mayor frecuencia de infecciones sintomáticas o asintomáticas por ECET.

Bibliografía

1. JERTBORN M., SVENNERHOLM A.M. IWARSO, S. A prospective study of serum antibody responses to enterotoxigenic *Escherichia coli* in swedish travellers. Scand J. Infect. Dis. 20:69-75, 1988.

Evaluación de anticuerpos séricos antifactores de virulencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico en niños de dos comunidades en Misiones, Argentina

Marta Rivas, Norma Binsztein, Gustavo Lasanta, Marta Vergara, Marina Quiroga, Sandra Grenón, Román Cinto, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Universidad Nacional de Misiones (Argentina). Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología (Argentina). Universidad de Göteborg (Suecia).

Presentado en el IV Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica y VIII Congreso Chileno de Infectología, 1991.

Resumen

Para evaluar la respuesta serológica a enterotoxina lábil (LT) al calor y a los factores de colonización (CFA) I y II de *Escherichia coli* enterotoxigénico (ETEC) se estudiaron 56 niños de 0 a 5 años, de bajo nivel socioeconómico del barrio Zaimán (Posadas, Misiones, Argentina), expuestos a las aguas del arroyo del mismo nombre como factor de riesgo, y 28 niños del mismo grupo etario y condición del barrio Las Dolores, como control.

Al comienzo del estudio y luego a los tres meses se tomaron de cada niño muestras de materia fecal para detectar la presencia de ETEC asociado o no a diarrea, y suero para la titulación por ELISA de anticuerpos anti-LT, anti-CFA/I y anti-CFA/II.

Los niños de ambos barrios incrementaron significativamente sus títulos de anticuerpos anti-LT y anti-CFA/II entre el primer y el segundo relevamiento, pero la magnitud de la seroconversión para anti-LT fue mayor en los niños de Zaimán. Esto se correlacionó con el aumento en el número de infecciones por ETEC, tanto sintomáticas como asintomáticas, que experimentaron estos niños.

Los títulos fueron bajos para los tres tipos de anticuerpos en el grupo etario de 0-11 meses, alcanzando los valores máximos en el segundo año de vida y manteniéndose en los niños mayores por las exposiciones reiteradas en ETEC. Sin embargo, los niños de Zaimán menores de un año tuvieron una respuesta diferente

para anticuerpos anti-LT, con títulos más altos que sus similares de Las Dolores, lo cual nos indicaría que tienen un contacto más temprano con cepas ECET-LT.

En el estudio prospectivo realizado con 20 niños de Zaimán y 10 niños de Las Dolores durante 2 años se pudo observar un aumento en los títulos de los tres tipos de anticuerpos con comportamientos variables en cada grupo etario. Cuando se analizó la respuesta serológica en cada niño se pudo concluir que el título de anticuerpos séricos no permite predecir el grado de protección a nivel de mucosas, dado las reinfecciones sintomáticas a ETEC que algunos de ellos padecieron, aun con títulos altos.

Recibió el Primer Premio de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica, Santiago de Chile 1991.

Este trabajo se realizó con subsidios de la Secretaría de Ciencia y Técnica (SECYT), Argentina y de la Swedish Agency for Research Cooperation with Developing Countries (SAREC).

***Escherichia coli* enterotoxigénico: Estudios preliminares de determinantes de patogenicidad.**

Patricia Oviedo, Marta Vergara, Octavio Estevez. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Médico veterinario.

Presentado en VII Congreso Argentino de Microbiología. Buenos Aires, 1995.

Escherichia coli enterotoxigénico (ECET) posee diversos Factores de Colonización (CFA) involucrados en la adherencia y colonización del epitelio intestinal. Estos CFA y la producción de toxinas termotábil (LT), termoestable (ST) o ambas (LT/ST), son importantes determinantes de patogenicidad en la enfermedad diarreica y ha sido descripta una fuerte asociación entre ellos. Algunos CFA poseen una combinación de Antígenos de Superficie (CS) asociados.

Con el fin de evaluar esto, por Hemaglutinación Manosa Resistente (HaMR) con eritrocitos humanos (H), bovinos (B) y de pollo (P), el poder de hidrofobicidad por el método de "Salting Out" (SO) y por la técnica de "Dot-Blot" (DB), realizamos el presente trabajo.

Analizando la tabla 1 de las 110 cepas de ECET solo 11 se recuperaron de niños con diarrea: 2 ECET-ST, 5 ECET-LT y 4 ECET-LT/ST.

Del total de cepas, el 67,2% produjo LT con 40% (30/74) de SO(+); el 13% produjo ST con 60% (9/15) de SO(+) y el 19% LT/ST con 71,4% (15/21) de SO(+).

Al realizarse la búsqueda de CS por DB en 54 cepas sometidas a esta técnica, solo el 35% expresó CS. De 12 cepas productoras de LT/ST, 3 expresaron CS2-CS3 y 9 CS1-CS3, 5 cepas productoras de ST expresaron CS5 y 2 productoras de LT expresaron CS17.

Tabla 1

PATRONES			TOXINAS			TOTAL
H	B	P	LT	ST	LT/ST	
R	R	R	6	2	0	8
N	R	R	2	0	5	7
N	N	R	2	0	0	2
N	N	N	25	6	3	34
Otros patrones			39	7	13	59
Total			74	15	21	110

R: HaMR, N: No hemoaglutina

Concluimos:

El bajo número de cepas que exhiben patrón de hemaglutinación, sugerentes de CFA I y CFA II puede deberse al alto porcentaje (67,2%) de cepas productoras de LT recuperadas en este estudio, que raramente los expresan.

La relación entre producción de toxinas y la expresión de CS encontrada aquí, coincide con otros autores (3).

La gran variedad de patrones que exhibieron estas cepas hace necesario continuar y profundizar estos estudios (1,2).

Bibliografía

1. AHREN C. *et al.* Comparison of methods for detection of colonization factor antigens on enterotoxigenic *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 23: 586-591, 1986.
2. EVANS D.J. *et al.* Hemagglutination patterns of enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* determined with human, bovine, chicken and guinea pig erythrocytes in the presence and absence of mannose. Infect. Immun. 23:337-345, 1979.
3. McCONNELL M. *et al.* Characterization of a new putative colonization factor (CS17) from a human enterotoxigenic *Escherichia coli* of serotype O114:H21 which produces only heat-labile enterotoxin. J. Infect. Dis. 161: 343-347, 1990.

Antibody responses against *Escherichia coli* heat-labile toxin and colonization factor antigens I and II in Argentinian children.

Marta Rivas, Norma Binsztein, Gustavo Basanta, Marta Vergara, Marina Quiroga, Román Cinto, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Universidad Nacional de Misiones (Argentina). Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología (Argentina). Universidad de Göteborg (Suecia).

Publicado en The Journal of Infectious Diseases, 171(4):1045-1049, 1995.

Summary

Serum antibody responses against *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin (LT) and colonization factor antigens (CFAs) I and II were studied in 84 children < 5 years old living in two communities. These villages differed in the quality of their drinking water. Children from both communities developed significantly increased antibody titers against LT and CFA/II but not against CFA/I during 3 months of follow-up. The magnitude of the anti-LT response was significantly higher in children from Zaiman than in those from Las Dolores. Antibody titers rose to maximum levels during the second year of age and reached relatively constant levels in children aged 2-5 years, probably due to repeated exposure to enterotoxigenic *E. coli* strains. Antibody levels of 30 children were followed for 2 years; increases in anti-LT and anti-CFA titers varied in the different age groups

***Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) aislada de niños con y sin diarrea en Argentina**

Norma Binsztein, Isabel Chinen, Gloria Viboud, L. L. Ayala, Rodolfo Notario, Marta Vergara, Daniel Maurel, A. Manni, M. Pichel, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán", Buenos Aires. Hospital "S.V. de Paul", Salta. Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Epidemiología "J. H. Jara", Mar del Plata. Universidad de Göteborg, Suecia.

Presentado en XIII Congreso Latinoamericano de Microbiología, Caracas, Venezuela, 1996.

E. coli enterotoxigénico (ETEC) es uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea infantil en países en desarrollo y el más frecuentemente aislado en diarreas del viajero. ETEC posee factores de adherencia (CFAs) que le permite adherir y colonizar el intestino delgado, donde elabora las toxinas ST (termoestables) y LT (termolábiles) causando diarrea. Los CFAs más estudiados hasta el presente son CFA/I, CFA/II, CFA/III, CFA/IV, CS7, CS17, PCFO159, PCFO166.

Metodología

Se llevó a cabo un estudio prospectivo caso-control en el que se analizaron *E. coli* aislados de 650 niños menores de 2 años los cuales acudieron espontáneamente a los consultorios externos de 4 hospitales regionales situados en distintas áreas del país. De estos niños, 400 tuvieron diarrea y 250 fueron asintomáticos. Las muestras de materia fecal fueron procesadas en los laboratorios regionales, en los cuales se identificó *E. coli* por medio de pruebas bioquímicas. De 3 a 5 colonias fueron enviadas al INM "Carlos G. Malbrán" para la caracterización de ETEC a través de GM 1-ELISA para LT y ELISA de inhibición competitiva para ST. Aquellos *E. coli* productores de toxinas fueron cultivados en agar CFA con sales biliares para el análisis de los distintos factores de colonización por la técnica de Dot blot. En todos los ensayos mencionados se usaron anticuerpos monoclonales producidos en la Universidad de Göteborg. La determinación de los serotipos O:H fue realizada por aglutinación, usando los sueros Denka Sciken (Japón).

Resultados

El 16.7% de los *E. coli* aislados de niños con diarrea y en el 8.8% de los provenientes de niños asintomáticos fueron caracterizados como ETEC. El 50% de los ETEC aislados fueron productores de LT, el 41 % de ST y el 9% de LT/ST. No se observó diferencia significativa en la frecuencia de aislamiento de *E. coli* productores de LT, ST o LT/ST entre los niños con diarrea y los asintomáticos. El 40 % de las cepas de ETEC aisladas de diarreas produjeron algún factor de colonización, siendo los mas frecuentemente hallados CFA/I (9%), CFA/IV (75%), CFA/II (6%) y PCFO166 (6%). Las cepas CFA positivas se encontraron igualmente distribuidas en niños con diarrea que en asintomáticos. Sin embargo, analizando cada factor individualmente se vio que las cepas que producían los CFAs mejor caracterizados (CFA/I, CFA/II y CFA/IV) se aislaron con mayor frecuencia en niños con diarrea (22.7% vs. 4%) ($p < 0.05$). Las ETEC-ST se encontraron más frecuentemente asociadas con CFA/I, CFA/IV Y PCFO166; las LT/ST con CFA/II; y las LT positivas con CS7 y CS17. A su vez cada factor de colonización estuvo asociado a determinados serogrupos

Conclusiones

Los factores de colonización CFA/I, CFA/II y CFA/IV, más frecuentemente asociados a ETEC implicados en diarreas de niños menores de 2 años, son buenos candidatos para ser incorporados en una vacuna contra ETEC de aplicación en nuestra población. Sin embargo, es necesario continuar investigando nuevos factores de colonización en aquellas cepas que no producen ninguno de los CFAs estudiados.

Anticuerpos sericos anti-LT en cuatro ciudades de la Argentina

Ana María Picandet, Marta Rivas, E. Manfredi, L.T. Ayala, Rodolfo Notario, Marta Vergara, Daniel Maurel, Norma Binsztein. Instituto Nacional de Microbiología “Dr. Carlos Malbrán”, Buenos Aires. Hospital “S.V. de Paul”, Salta. Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Epidemiología “J.H. Jara”, Mar del Plata.

Presentado en XIII Congreso Latinoamericano de Microbiología, Caracas, Venezuela, 1996.

Objetivo

Evaluar la respuesta inmune a la toxina lábil al calor (LT) de *Escherichia coli* enterotoxigénico (ETEC) en sueros de niños menores de 2 años en 4 ciudades de la Argentina.

Material y Métodos

Entre julio de 1992 y junio de 1994 se estudiaron 87 casos con diarrea y 87 controles asintomáticos en Orán, salta (n=46); Posadas, Misiones (n=46); Mar del Plata, Bs. As. (n=32) y Rosario, Santa Fe (n=50). Las muestras de suero correspondieron a la fase aguda (1-3 días del comienzo de la enfermedad) y a la fase convaleciente (14-30 días). La distribución de los niños según la edad tanto en casos como en controles fue de n=74 en el grupo de 0-<12 meses y de n=100 en el de ≥ 12 -24 meses. Los títulos de anticuerpos (Acs) anti-LT se determinaron por el método de GM1-ELISA y fueron transformados en logaritmos para el cálculo de la media geométrica (GMT).

Resultados

ETEC se aisló en 15/87 (17,2%) casos y en 11/87 (12,6%) controles, siendo la frecuencia de detección para ETEC-LT igual en ambos grupos (n=8). Las GMTs

totales fueron bajas tanto en casos como en controles. Analizadas por grupo etáreo en el de 0-<12 meses no se observaron diferencias tanto en casos como en controles.

Conclusiones

ETEC-LT fue el microorganismo que se aisló con mayor frecuencia tanto en casos como en controles. El mayor aumento de la GMT correspondió al grupo de ≥ 12 -24 meses y a las ciudades de Orán y Posadas. El aumento de GMT estuvo asociado en el 29,6% de los casos al aislamiento de ETEC-LT.

Anticuerpos vibriocidas en Misiones, Argentina, provincia libre de cólera

Patricia Oviedo, Eduardo Pegels, Marta Rivas, Marta Vergara.
Cátedra de Bacteriología, Universidad Nacional de Misiones.
Instituto Nacional de Microbiología “Carlos Malbran” (INM).

Presentado en I Congreso Internacional de Infectología y Bacteriología Clínica (SADI-SADEBAC), III Congreso de Infectología del Mercosur, I Congreso de Infectología Pediátrica del Mercosur y I Congreso de Microbiología del Mercosur, Buenos Aires, Argentina, 1997.

Dado que Misiones es aun una de las provincias de nuestro país, libre de cólera y teniendo en cuenta su posición geográfica y climática, consideramos de utilidad investigar la presencia de anticuerpos vibriocidas (Ac-V) en nuestra área, a fin de conocer los títulos basales de los mismos, cuya expresión provee una medida de la inmunidad en la población.

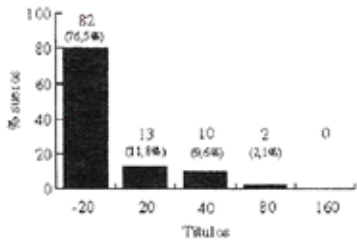
Se estudiaron 107 sueros, de adultos sanos (entre 18-43 años) todos pertenecientes al grupo sanguíneo “O”, considerado como el de mayor susceptibilidad a la infección por *Vibrio cholerae*, especialmente el biotipo El Tor, responsable de la epidemia en Latinoamérica.

La técnica utilizada para la determinación de los Ac-V fue descripta por el laboratorio de Referencia en Cólera del INM, el cual proveyó las cepas patrones Ogawa VC12 e Inaba VC13. El suero control positivo fue cedido por la Dra. M. R. Pizarro de la provincia de Jujuy. Los resultados obtenidos se presentan en gráficos 1 y 2. Destacamos:

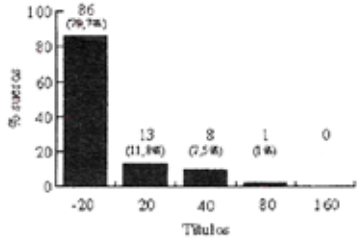
- El 60% de la población de nuestra provincia pertenece al grupo sanguíneo “O”.
- El 100% de los sueros estudiados mostró un título $\leq 1/80$.
- Los resultados obtenidos son los esperables para un área libre de cólera.

- El estudio de la respuesta inmune a *Vibrio cholerae* en una población, permite caracterizar el área y establecer las acciones de prevención y control ante toda modificación en el nivel basal de anticuerpos vibriocidas.

Distribución de los Títulos de Anticuerpos Vibriocidas OGAWA, en una muestra Poblacional de Misiones.
Gráfico 1



Distribución de los Títulos de Anticuerpos Vibriocidas INABA, en una muestra Poblacional de Misiones.
Gráfico 2



Vibrio cholerae* toxigenico: identificación del gen *ctxB

Marta Vergara, Jorge Maestre, Odelaissy Suárez, Raúl Monte.
Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones,
Argentina. Laboratorio de Medicina Nuclear, Instituto de
Medicina Tropical Pedro Kouri, La Habana, Cuba. Laboratorio
de Enfermedades Diarreicas Agudas, Instituto de Medicina
Tropical Pedro Kouri, La Habana, Cuba.

Publicado en Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica,
15:181-185, 1997.

Fundamento

Se construyó una sonda específica que permite identificar parte de la secuencia genética del gen *ctxB* que codifica para la subunidad B de la toxina colérica, mediante PCR que amplifica un segmento de 318 pb del gen *ctxB*. Dicha sonda, marcada con ^{32}P se usó para la hibridación de colonias, técnica con la que identificamos la capacidad de producción de la subunidad B, de cepas de *Vibrio cholerae* O1 provenientes de distintos brotes de Sudamérica (Perú, 1992 y Ecuador, 1993-1995), y de cepas de colección. Ensayamos esta sonda para la identificación del gen *ctxB* en *Vibrio cholerae* O139.

Metodo

Fueron estudiadas 38 cepas filogenéticamente relacionadas: 24 de *V. cholerae* O1, 4 de *V. cholerae* no O1, 5 de *Aeromonas* spp., 4 de *Plesiomonas* spp. y una de *Escherichia coli*.

Resultados

La sonda construida demostró utilidad para la identificación del gen *ctxB*, (que codifica para la subunidad B de la toxina colérica) en 24 cepas de *Vibrio cholerae* O1 y en la cepa de *Vibrio cholerae* O139.

No se detectó el gen *ctxB* en las restantes cepas que pertenecían a las especies de *Vibrio cholerae* no O1 (no O139), *Plesiomonas* spp., *Aeromonas* spp. y *E. coli*.

La especificidad de este producto se demostró al no aparecer ninguna señal de hibridación inespecífica con cepas filogenéticamente relacionadas, como *Escherichia coli* K88 (LT +) y *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 (LT +), productoras de toxina termolábil LT.

Destacamos que por primera vez se identifica con nuestra sonda, el gen *ctxB* en *V. cholerae* O139, por lo que podemos decir que con ella se pueden identificar todas las cepas que tienen codificación genética para la CT, comunicadas hasta el momento.

Conclusiones

Concluimos que el sistema aquí descrito ofrece ventajas sobre los métodos inmunológicos y biológicos para evaluar gran número de muestras en pocas horas y con excelente especificidad y sensibilidad, lo que es importante en el diagnóstico y en la vigilancia epidemiológica de la enfermedad.

***Aeromonas spp.*: producción de enzimas extracelulares**

Marina Quiroga, Marta Vergara, Liliana Lubaczewski. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en VIII Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires, Argentina, 1998.

El amplio rango de enfermedades humanas asociadas a distintas especies de *Aeromonas spp.* (A) sugiere una etiología compleja en la que las cepas poseen una variedad de factores de virulencia en diferentes asociaciones. La capacidad de producir enzimas es esencial para la colonización, junto a los factores adhesivos. Si un microorganismo puede reconocer receptores específicos tendría la habilidad de adherirse y colonizar al huésped, con la subsecuente elaboración de enzimas que dañen tejidos que facilitarían la penetración y el establecimiento de la infección. Considerando que el 85% de todos los aislamientos en especial clínicos, debidos a *A.*, son causados por las especies *A. hydrophila* (Ah), *A. veronii* biov. *sobria* (As) y *A. caviae* (Ac), decidimos estudiar la capacidad de producir las enzimas extracelulares: Lecitinasa (Lec), Elastasa (Ela), Estafilolisina (Est), Pirazinamidasa (Pir) y Hemolisinas (Hem) de 69 cepas de *A.* aisladas de muestras clínicas (heces, hemocultivo, herida) y ambientales (agua).

Materiales y Métodos

Se ensayó la producción de enzimas extracelulares en 32 cepas de Ah (19 de heces diarreicas, 10 de heces no diarreicas, 2 de agua y 1 de herida), 12 de As (6 de heces diarreicas y 6 de heces no diarreicas) y 25 Ac (15 de heces diarreicas, 7 de heces no diarreicas, 2 de agua y 1 de hemocultivo). La detección de Lec, Ela, Est y Pir se realizó según metodología estándar y la de hemolisinas por método cuantitativo. El título de hemolisinas de los sobrenadantes libres de células se determinó por

microdilución, utilizando eritrocitos humanos grupo O. Se consideró positivo un título de hemolisinas $\geq 1/16$.

Resultados

Se muestran en Tabla 1. Observamos diferencias significativas ($p<0.05$) en la producción de Lec, Ela y Pir en Ah respecto As y Ac. En la producción de Est solo encontramos diferencias ($p<0.05$) entre Ah y Ac. No se hallaron diferencias ($p>0.05$) entre As y Ac para la producción de dichas enzimas. Las cepas de Ah (59.4%) y las de As (50.0%) presentaron mayor actividad hemolítica que las cepas de Ac (16.0%) ($p<0.05$). No se observaron diferencias significativas en la producción de hemolisinas entre las especies Ah y As.

Conclusiones

Las cepas de Ah y As, consideradas las más virulentas, demostraron poseer mayor capacidad para producir enzimas, en especial hemolisinas, que podrían participar activamente en los procesos infecciosos. Según nuestros resultados, Ac pareciera ser de menor virulencia, hecho ya informado por otros autores.

Los resultados obtenidos corroboran la evidencia de que este género posee factores de virulencia que les permitirían participar y cumplir un rol importante en los procesos infecciosos, aunque no todas las cepas tendrían el mismo potencial como agentes de infecciones humanas. Esta falta de uniformidad indicaría que el mecanismo de patogénesis de A es multifactorial siendo probable que cada especie utilice mecanismos propios para producir infección.

Tabla 1

	PRODUCCION DE ENZIMAS EXTRACELULARES				
	Lec ¹	Ela ²	Est ³	Pir ⁴	Hem ⁵
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<i>A. hydrophila</i> (n=32)	28 (87.5)	20 (62.5)	15 (46.9)	28 (87.5)	19 (59.4)
<i>A. caviae</i> (n=28)	15 (60.0)	3 (12.0)	3 (12.0)	13 (52.0)	4 (16.0)
<i>A. veronii-sobria</i> (n=12)	9 (75.0)	3 (25.0)	3 (25.c)	3 (25.0)	6 (50.0)

1- Lecitinasa, 2- Elastasa, 3- Estafilolisina, 4- Pirazinamidasa, 5- Hemolisina.

Prospective cohort study of enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in Argentinean children.

Gloria I. Viboud, Mónica J. Jouve, Norma Binsztein, Marta Vergara, Marta Rivas, Marina Quiroga, Anne-Marie Svennerholm. Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, "ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán", Ministerio de Salud y Acción Social, (1281) Capital Federal, Argentina.

Publicado en J. Clin. Microbiol., 37(9):2829-33, 1999.

Summary

In a follow-up study, enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) infections in 145 children from two communities located in northeastern Argentina were monitored for 2 years. The occurrence of diarrhea was monitored by weekly household visits. Of 730 fecal specimens collected, 137 (19%) corresponded to diarrheal episodes. ETEC was isolated from a significantly higher proportion of symptomatic (18.3%) than asymptomatic (13.3%) children ($P = 0.04541$). Individuals of up to 24 months of age were found to have a higher risk of developing ETEC diarrhea than older children (odds ratio [OR], 3.872; $P = 0.00021$). When the toxin profiles were considered, only heat stable enterotoxin (ST)-producing ETEC was directly associated with diarrhea ($P = 0.00035$). Fifty-five percent of the ETEC isolated from symptomatic children and 19% of the ETEC isolated from asymptomatic children expressed one of the colonization factors (CFs) investigated, i.e., CF antigen I (CFA/I), CFA/II, CFA/III, and CFA/IV; coli surface antigens CS7 and CS17; and putative CFs PCFO159, PCFO166, and PCFO20, indicating a clear association between diarrhea and ETEC strains that carry these factors ($P = 0.0000034$). The most frequently identified CFs were CFA/IV (16%), CFA/I (10%), and CS17 (9%). CFs were mostly associated with ETEC strains that produce ST and both heat-labile enterotoxin and ST. Logistic regression analysis, applied to remove confounding effects, revealed that the expression of CFs was associated with illness independently of the toxin type (OR, 4.81; $P = 0.0003$). When each CF was considered separately, CS17 was the only factor independently associated with illness (OR, 16.6; $P = 0.0151$). Most CFs (the exception

was CFA/IV) fell within a limited array of serotypes, while the CF-negative isolates belonged to many different O:H types. These results demonstrate that some CFs are risk factors for the development of ETEC diarrhea.

FACTORES DE RIESGO

Estudio prospectivo de infecciones y reinfecciones por *Escherichia coli* enterotoxigénico en una población de Argentina

Norma Binsztein, Marta Rivas, Laura López Moral, Marta Vergara, Eduardo Pegels, Viviana Villalba, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Universidad Nacional de Misiones (Argentina). Universidad de Göteborg (Suecia).

Presentado en el XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; VI Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires 1991.

Escherichia coli enterotoxigénico (ECET) es reconocido como importante agente causal de infecciones intestinales en niños en países en desarrollo y de la diarrea del viajero. El conocimiento de su incidencia y distribución en la población infantil es importante para el desarrollo de vacunas que hagan al huésped más resistente a la infección (1). No hay estudios publicados de seguimiento en niños sintomáticos y asintomáticos para establecer la colonización intestinal por ECET. El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio prospectivo sobre infecciones y reinfecciones por ECET en niños de dos comunidades, Zaimán y Las Dolores, de Misiones, Argentina.

Se estudiaron 91 niños de 0 a 6 años de edad.

Al comienzo del proyecto y luego cada 3 meses, de cada niño se tomó una muestra de materia fecal (MF) para la detección de enteropatógenos, registrándose la presencia de diarrea concomitante. De cada muestra de MF se ensayaron 6 colonias de *E. coli* en cuanto a la producción de enterotoxina lábil (LT) y/o estable (ST) al calor, utilizando la prueba de gangliósido GM1-ELISA para ambas toxinas (2) (3). Cuando en algunos de los relevamientos se detectó ECET, se tomó una nueva muestra de MF a los 30 días.

De los 91 niños centinelas, 28 (30,8%) presentaron infección por ECET, mientras que en otros 24 (26,4%) se detectó ECET en más de 1 muestra.

Esto significa que 52 niños (57%) experimentaron uno o más episodios de infecciones sintomáticas o asintomáticas por ECET durante su seguimiento. La frecuencia de reinfecciones fue mayor en la comunidad de Zaimán (30,9%) que en Las Dolores (19,4%).

De los 24 niños que presentaron reinfecciones a ECET, 15 (62,5%) tuvieron 2 episodios, 5 (20,8%) tres episodios y 4 (16,7%) cuatro episodios.

En 11/24 niños (45,8%) hubo reinfecciones sólo por ECET-LT y en 1 (4,2%) por ECET-ST. En cambio en los otros 12 (50%) el perfil toxigénico detectado en los nuevos episodios fue distinto. Es importante destacar que los serotipos ECET encontrados en las reinfecciones siempre fueron diferentes. La mayor frecuencia de reinfecciones se presentó en los niños que tuvieron una primera infección asintomática por ECET-LT.

La infección única por ECET fue más frecuente en los grupos etarios de 0-11 meses, de 12 a 23 y de 36-65 meses. En cambio para las reinfecciones el grupo más vulnerable fue el de 24-35 meses (46,7%).

En conclusión:

- Es importante el porcentaje de niños (26,4%) que presentan reinfecciones sintomáticas y asintomáticas por ECET.
- Estos episodios de reinfección estuvieron fundamentalmente asociados a ECET-LT, sin embargo estas cepas fueron, en todos los casos, de diferente serotipo.

Bibliografía

1. LEVINE M.M., KAPER J.B. *et al.* New knowledge on pathogenesis of bacterial enteric infections as applied to vaccine development. *Microbiol. Rev.* 47:510-550, 1983.
2. SVENNERHOLM A.M., WIKLUND G. Rapid GM1-enzyme linked immunosorbent assay with visual reading for identification of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *J. Clin. Microbiol.* 17:596-600, 1983.
3. SVENNERHOLM A.M., WIKSTROM M. *et al.* Monoclonal antibodies against *Escherichia coli* heat-stable toxin (ST) and their use in diagnostic ST ganglioside GM1-enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 24:585-590, 1986.

Estudio prospectivo de enteropatógenos asociados a la pobreza

Marta Vergara, Sandra Grenón, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Jorge Deschutter, Marta Rivas, Norma Binsztein, Raúl Claramount. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones.

Presentado en VIII Jornadas de la Asociación Argentina de Microbiología. Patologías Regionales, Córdoba, Argentina, 1992.

La portación de enteropatógenos (EP) caracterizada por su intermitente o continua excreción fecal, sin síntomas de infección, constituye el reservorio que los mantiene en el ambiente, favoreciendo la contaminación en áreas marginales y provocando enfermedad o brotes epidémicos.

Para evaluar estos hechos, realizamos un estudio de vigilancia epidemiológica, de 2 años de duración (1990-1991), en niños menores de 5 años de dos comunidades socio-económicamente diferentes, de Posadas, Misiones, provincia que registra alta tasa de morbilidad (33,6%) en diarrea de la infancia.

97 niños de barrio Zaimán (Z) y 55 del barrio Dolores (D) fueron vigilados semanalmente. Las heces (MF) se recolectaron trimestralmente y en cada episodio diarreico y se completó ficha epidemiológica para la caracterización de la pobreza, la que se determinó según el NBI (índice de necesidades básicas insatisfechas) del INDEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos), discriminándose a Z como el barrio de pobreza más crítica.

Uno o más EP se identificaron en Z con mayor frecuencia (73,9%) que en D (58,3%). En Z se registró el mayor número de episodios diarreicos (15,45%) que en D (12,35%).

El número de EP bacterianos fue superior, con significancia estadística ($p < 0,05$) en niños con diarrea en Z, no así en D. Los enteroparásitos se detectaron en ma-

yor número en los niños asintomáticos ($p<0,01$) que en los episodios diarreicos del mismo barrio.

En general:

En D no se encontraron diferencias significativas en la ocurrencia de EP entre niños sintomáticos y asintomáticos

Giardia lamblia fue el enteroparásito más frecuente en el estudio.

Infecciones mixtas se presentaron en ambos barrios, estando las *E. coli* enterotoxigénicas productoras de toxina termoestable y Rotavirus asociados a la diarrea con significancia estadística ($p<0,05$), respecto a los asintomáticos.

La elevada portación de EP en el barrio de mayor pobreza y el mayor número de episodios diarreicos registrados, acentúa el concepto de la prevalencia de estos agentes en áreas marginales, de alto nivel de contaminación ambiental, y enfatiza la necesidad de implementar normas de prevención y control de la diarrea que sumada a la pobreza, afecta el normal desarrollo y hasta la vida de nuestros niños.

Estudio clínico y microbiológico de la diarrea aguda de la infancia

Marta Vergara, Marina Quiroga, Sandra Grenón, Marta Rivas, Norma Binsztein. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología “Dr. Carlos Malbrán” (INM).

Presentado en VI Simposio de Bacteriología Clínica, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina, 1992.

Las enfermedades diarreicas constituyen una de las causas principales de morbi-mortalidad en niños menores de cinco años, en especial en países en vías de desarrollo. En Argentina, *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP), *Shigella*, *Escherichia coli* enterotoxigénico (ECET) y Rotavirus han sido involucrados como los principales agentes de diarrea infantil.

El propósito de este estudio fue el de comparar la etiología y presentación clínica de la diarrea aguda en niños ambulatorios e internados, con menos de 24 hs de internación, de idéntico grupo étnico, procedencia y nivel socioeconómico, con diarrea, menores de 5 años, sin tratamiento antibiótico previo, de Posadas, Misiones.

Se estudiaron 109 niños entre Agosto de 1989 y Julio de 1992, de ellos, 58 requirieron internación, grupo 1 (G1) y 51 ambulatorios (G2). Todos carecían de servicios sanitarios mínimos como agua potable, eliminación de excretas y tratamiento de residuos.

Una muestra de heces (MF) de cada niño, recién emitida, fue procesada y estudiada según el Manual de Infecciones Entéricas de la OMS, utilizándose sueros del INM para la serotipificación. ECET se estudió por ELISA con anticuerpos monoclonales, ECEI por test de Sereny, *Campylobacter* por cultivo standard y Rotavirus por ELISA sandwiches. La búsqueda de enteroparásitos se realizó por examen microscópico en fresco.

En Tabla 1 se presenta la distribución porcentual de los enteropatógenos (EP) en ambos grupos. Uno o más (EP) se identificaron en el 55,2 % del G1 y en el 43,1 %, del G2, no encontrándose diferencias estadísticas significativas, lo que nos hace pensar que es la severidad de los síntomas en niños desnutridos que determina su internación. ETEC fue el EP más frecuente en ambos grupos. En G1, ETEC productor de toxina termoestable (ST) prevaleció (sin significancia estadística), y en G2 el aislamiento de ETEC productor de toxina termolábil (LT) fue significativamente superior ($p=0,001$). Múltiples patógenos se detectaron en mayor número en G1, siendo la asociación ETEC-Rotavirus, la más frecuente y ETEC-*Giardia lamblia* en G2.

Estos resultados, sugieren que en los niños de bajo estrato social de nuestra zona ETEC puede ser una importante causa de diarrea severa que los conduce a la hospitalización. *Shigella*, de alta frecuencia en Misiones, determinó en los niños G1 con ablactación precoz (media 0,8 meses) (rango 1-1,5 m) severa diarrea.

La tabla 2 muestra los parámetros clínicos de los niños. Leucocitos y vómitos fue superior con significancia estadística en G1. En los niños de G2 es probable que la protección proporcionada por el amamantamiento (media 11,3 meses vs. 4,3) contribuyó a que la diarrea sea menos severa, no requiriendo internación.

Concordamos con Pitson (1) que la etiología de la diarrea leve, puede ser inferida desde el conocimiento de la diarrea del hospitalizado, hecho importante en zonas de posibilidades diagnósticas limitadas al medio hospitalario.

Tabla 1. Enteropatógenos detectados en niños con diarrea hospitalizados y ambulatorios

ENTEROPATOGENOS	GRUPO I (N = 58)		GRUPO 2 (N = 51)	
	Nº	%	Nº	%
ECEP	2	(3)	2	(4)
ETEC	10	(17)	8	(15,7)
EIEC	0	-	0	-
<i>Shigella</i>	3	(5)	4	(4)
<i>Salmonella</i>	0	-	0	-
<i>Campylobacter</i>	1	(1,7)	0	-
Rotavirus	3	(5)	1	(2)
<i>Giardia lamblia</i>	1	(1,7)	4	(7,8)
<i>Entamoeba histolitica</i>	0	-	0	-
MÚLTIPLES PATOGENOS	12	(20,7)	5	(9,8)
TOTAL	32	(55,2)	22	(43,1)

Tabla 2. Características y parámetros clínicos de niños con diarrea hospitalizados y no hospitalizados

	GRUPO I (N = 58)		GRUPO 2 (N = 51)	
DÍAS INICIO SÍNTOMAS*	3,7	(1-6)	4,1	(2-6)
Nº DE DEPOSICIONES/24 HS.*	5,8	(2-9)	3,7	(2-6)
SÍNTOMAS:				
LEUCOCITOS	58,6%		11,8% (p 0,001)	
FIEBRE (+38°C)	13,8%		-	
VÓMITOS	62,1%		7,8% (p 0,001)	
CUADRO RESPIRATORIO	15,5%		33,3% (p 0,05)	
DESHIDRATACIÓN:				
Moderada (5-10%)	63,7%		-	
Severa (+10%)	15,5%		-	
DESNUTRICIÓN:				
Moderada (16-25%)	24,1%		-	
Severa (+25%)	24,1%		-	
AMAMANTAMIENTO (MESES)*	4,3	(0-4,2)	11,3	(10-22,5)

*media y rango.

Bibliografía

1. PITSON G.A., GRIMWOOD K., COULSON B.S., OBERKLAIID F., HEWSTONE A.S., JACK I., BISHOP R.F., BARNES G.L. Comparison between children treated at home and those requiring hospital admission for Rotavirus and other enteric pathogens associated with acute diarrhea in Melbourne, Australia J. Clin. Microbiol. 24 (3): 395-399, 1986.

Prospective study of enteropathogens in two communities of Misiones, Argentina

Marta Vergara, Marina Quiroga, Sandra Grenón, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Jorge Deschutter, Marta Rivas, Norma Binsztein, Raúl Claramount. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán". Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Misiones.

Publicado en Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 38(5):337-47, 1996.

Summary

Children under five years of age, from two communities of different socio-economic strata (97 from Zaiman and 55 from Las Dolores) were examined epidemiologically during 2 years, by means of quarterly visits of the working team, who carried out the collection of faecal samples. During the study, one or more enteropathogens were identified in 73.9% of samples in children from Zaiman and in 58.3% of the samples from Las Dolores, being associated to diarrhoea in 70.5% and to asymptomatic infections in 65.7%. The number of diarrheic episodes was higher in Zaiman (15.45%) than in Las Dolores (12.35%), being more frequent in the spring-summer seasons. In Zaiman, the bacterial enteropathogen proportion was relevantly higher ($p < 0.005$) in children with diarrhoea, whereas the presence of parasites was more frequent in asymptomatic children ($p < 0.01$). Rotavirus had an even distribution within diarrheic and asymptomatic children. In Las Dolores, no relevant differences were found in the detection of enteroparasites between diarrheic and asymptomatic children. Mixed infections were detected; enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC)-rotavirus and ETEC-parasites being the most frequent ones. ETEC was involved in 85% of these infections. These data, together with the high enteropathogen carriage, suggest an elevated level of environmental contamination. The latter plays an important role in diarrheic diseases, and added to the most extreme poverty, it affects children's lives.

Estudio caso-control de *Escherichia coli* diarreigénico en Argentina

Isabel Chinen, Norma Binsztein, G. Soares Campos, L.T. Ayala, Rodolfo Notario, Marta Vergara, Daniel Maurel, Gloria Viboud, A. Manni, M. Pichel, Marta Rivas, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología “Dr. Carlos Malbrán”, Buenos Aires. Hospital “S.V. de Paul”, Salta. Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Epidemiología “J. H. Jara”, Mar del Plata. Universidad de Göteborg, Suecia.

Presentado en XIII Congreso Latinoamericano de Microbiología, Caracas, Venezuela, 1996.

Las enfermedades diarreicas constituyen la principal causa de morbilidad en los niños en países en vías de desarrollo. Entre los agentes causales mas frecuentes se encuentra *Escherichia coli* diarreigénico. En base a los mecanismos de virulencia, se han descrito hasta el momento seis categorías de *E. coli* productor de diarreas: enterotoxigénico (ETEC), enteropatógeno (EPEC), enterohemorrágico (EHEC), enteroinvasivo (EIEC), enteroagregativo (EA_gEC) y de adherencia difusa (DAEC).

Con el objeto de definir la asociación entre diarrea y las diversas categorías de *E. coli*, se llevo a cabo un estudio epidemiológico en niños menores de dos años con diarrea (400) y asintomáticos (250), que concurrieron espontáneamente a cuatro hospitales regionales de diferentes áreas del país. Las colonias de *E. coli* aisladas de las muestras de materia fecal en los distintos laboratorios fueron remitidas al Instituto Nacional de Microbiología “Dr. Carlos Malbrán” para su posterior caracterización.

Metodologia

Se utilizaron las siguientes técnicas para la detección de:

EPEC, DAEC, EA_gEC y EHEC: Hibridación por colony blot con sondas específicas. ETEC: GM1-ELISA para LT, ELISA de inhibición para ST y Dot blot

para CFAs. EIEC: ELISA directo para OMP, Test de Sereny y pruebas bioquímicas.

Se determinó el serotipo a los aislamientos identificados como EPEC o ETEC.

Resultados

Las categorías de *E. coli* diarrogénico más frecuentemente aisladas de los casos de diarrea fueron: 16,5% ETEC, 17% EPEC, 17,2% DAEC, 18,7% EA_ggEC; en los asintomáticos: 8,8% ETEC, 13,2% EPEC, 15,2% DAEC y 21,2% EA_ggEC. Al comparar ambos grupos se observó una diferencia estadísticamente significativa solo para ETEC ($p < 0,05$).

A pesar de que la distribución de EPEC fue similar en diarreas y controles, al analizar la presencia del gen *eaeA* (attaching and effacing) y de *bfpA* (adherencia), se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre la frecuencia de aislamientos *eaeA*+ *bfpA*+ en diarreas (8,5 %) y en controles (3,6 %). En cambio, los aislamientos *eaeA*+ *bfpA*- estuvieron igualmente distribuidos entre diarreas (8,2%) y controles (8,4%). Por otra parte, un pequeño porcentaje de los aislamientos resultaron positivos para *bfpA* y negativos para *egea*.

Los serogrupos más frecuentemente hallados en los aislamientos de EPEC fueron O111, O119, O55, O127 y O26, en ese orden.

DAEC y EA_ggEC fueron analizados por hibridación con las sondas obtenidas de los plásmidos pSLM852 (DAEC) y pCVD432 (EA_ggEC). La frecuencia de aislamiento de ambos gérmes fue similar en diarreas y controles.

Un mínimo número de aislamientos (4/650) fue positivo para EIEC; no detectándose ningún EHEC con la metodología utilizada.

En algunos aislamientos se detectó más de un factor de virulencia correspondiente a categorías diferentes de *E. coli*, no pudiendo ser incluidas en ninguno de los grupos de *E. coli* diarrogénicos. Por otra parte, también se observó la presencia simultánea de más de una categoría de *E. coli* en un mismo caso.

A cohort study on diarrheagenic *Escherichia coli* infections in Argentina.

Isabel Chinen, Norma Binsztein, Gloria Viboud, Marina Quiroga, Marta Vergara, M.G. Pichel, Anne-Marie Svennerholm. Instituto Nacional de Microbiología "Dr. Carlos Malbrán", Buenos Aires. Universidad Nacional de Misiones, Argentina. Universidad de Göteborg, Suecia.

Presentado en 97th General Meeting ASM. Washington, USA, 1997.

A cohorte study was carried out to determine the rate of symptomatic and asymptomatic infections due to enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) and other diarrheagenic *E. coli* in children from birth up to 20 months old, in Argentina. During the course of this period, 44 children of an area within 20 km from the local hospital in Posadas, Misiones, were followed. A total of 72 episodes of diarrhea occurred, during the first year, a mean of 0.64 episodes/child/year was recorded, and this figure increased to 1.0 episodes/child/year in the following 10 months. During the whole period 1769 fecal specimens were analyzed for the 6 categories of diarrheagenic *E. coli* by ELISA or genes probes. Enterovirulent *E. coli* were isolated from 32% of the diarrheal episodes: ETEC 6.9%, enteropathogenic *E. coli* (EPEC) 12.5%, enteroaggregative *E. coli* (EAaggEC) 2.8% and diffuse adherent *E. coli* (DAEC) 9.7%. In this study 23% of the *E. coli* strains isolated from asymptomatic children were associated to one of the diarrheagenic *E. coli* categories. Seventy one percent of the children had at least one ETEC-associated infection during the first year of life. However, in only two of them was the infection symptomatic. This may suggest that the young children were protected by maternal antibodies. The older children that were no longer breast fed but also had a low frequency of diarrhea may have developed protective immunity due the repeated exposure to ETEC in too low doses to cause any symptom.

Infecciones asintomáticas por *Escherichia coli* diarrogénicos en niños desde su nacimiento y durante sus primeros veinte meses de vida

Marta Vergara, Marina Quiroga, Patricia Oviedo, Lydia Schiavoni, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Norma Binsztein, Marta Rivas. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales, Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Carlos Malbran", Buenos Aires.

Presentado en VIII Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires, Argentina, 1998.

Se estudiaron las infecciones asintomáticas por *Escherichia coli* (*E.coli*) diarrogénicas en niños desde su nacimiento y durante los primeros veinte meses de vida, y se asoció su ocurrencia con: nivel socio-económico, destete, incorporación de alimentos mixtos, edad y variaciones estacionales. Se seleccionaron niños por nacer, en el último trimestre de embarazo de sus madres. Serología (+) para HIV y Sífilis reactiva fueron criterios excluyentes para la selección de la población materna y sus recién nacidos. A estos se agregó la internación por más de 24 hs. Los niños fueron evaluados perinatólogica, clínica y epidemiológicamente.

El nivel socio-económico se evaluó según indicadores como: la relación entre consumidores y trabajadores a fin de conocer las posibilidades del niño de contar con recursos necesarios. Se construyeron índices de sumatoria simple para medir la calidad y condiciones sanitarias de las viviendas de los niños, según materiales usados en la construcción de paredes, techos y pisos, y datos del origen del agua, tratamiento de residuos y eliminación de excretas. Otros indicadores se evaluaron: composición del grupo familiar, responsables del cuidado del niño, situación ocupacional, nivel educativo del jefe de familia, hacinamiento. .

Desde Abril-93 y por 20 meses se vigilaron epidemiológicamente 44 niños con visitas domiciliarias quincenales por los trabajadores sociales, los que registraban estado socio económico, de salud y cuidados del niño, recogiendo muestras fecales en cada visita.

Se realizaron 1760 visitas, recolectándose 1524 muestras fecales de niños asintomáticos, recuperándose en ellas 7620 cepos de *E. coli*, las que se estudiaron para la detección de *E. coli* enteropatógeno (ECEP), *E. coli* enterotoxigénico (ECET) y *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enteroinvasivo (ECEI) y *E. coli* enteroadherente (ECAA) (adherencia localizada: ECAL, agregativa: ECAA y difuso: ECAD), utilizándose métodos biológicos, inmunoenzimáticos y sondas de ADN.

Se recuperaron 510 cepas de *E. coli* diarrogénicos (33,5 %), distribuidas en: ECAA 31,4 %, ECEP 28,8 %, ECAD 27,1 % y ECET 12,7 %. La ocurrencia de ECAA, ECEP y ECAD no presentó diferencias significativas entre ellas ($p > 0.05$). Si las hubo en la recuperación de estas categorías respecto a ECET ($p < 0.05$).

No se recuperaron ECEI ni ECEH. El 100 % de los niños presentó infecciones asintomáticas por *E. coli* diarrogénicos en algún momento del estudio. Los tiempos promedios en meses de aparición de la colonización por *E. coli* diarrogénicos, destete e incorporación de alimentación mixta, fueron de 7,5; 12,8 y 3,8 respectivamente y según categoría fueron: ECAA 6,7 (rango 0,5-17); ECAD 6,6 (rango 0,5-19); ECEP 6,9 (rango 1-19) y ECET 9,7 (rango 1-19,5)- ECAA, ECEP y ECET se recuperaron con mayor frecuencia en primavera-verano, $p < 0.05$, vs. otoño-invierno y ECAD en otoño-invierno, $p < 0.05$, vs. primavera-verano.

La distribución según grupos etáreos de las distintas categorías: ECET mas frecuente, $p < 0.05$, en niños mayores de 6 meses y ECEP, ECAA y ECAD en menores de 1 año, $p < 0.05$. Al relacionar la primera colonización con la incorporación de otro alimento a la lactancia materna exclusiva, detectamos que ocurrió el 50% en casos de ECAD, 59,5 % en ECAA, 57,1 % en ECEP y 58,1 % en ECET. A excepción de 6,5 % por ECET, 27,5 % por ECAD, 19,5 % por ECAA y 21,4 % por ECEP, la primera colonización se produjo cuando los niños se alimentaban a pecho exclusivamente.

Concluimos:

- estas familias presentan necesidades básicas satisfechas y con estrategias de vida que permiten optimizar los recursos que disponen.
- elevada y pronta aparición de la colonización en estos niños.
- el riesgo que involucra la incorporación de la alimentación mixta en un ambiente altamente contaminado como el nuestro.

- que nos queda como propuesta futura investigar las consecuencias de esta elevada y temprana aparición de la colonización en niños de bajo nivel socioeconómico, donde la desnutrición y la ausencia de sanitación los hace vulnerables a una severa enfermedad diarreica.

Infecciones asintomáticas por *Escherichia coli* diarrogénicos en los primeros 20 meses de vida de niños de Misiones, Argentina

Marta Vergara, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Elizabeth Husulak, Lydia Schiavoni, Norma Binsztein, Marta Rivas. Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología "Carlos Malbran", Buenos Aires.

Presentado en I Congresso de Enfermidades Transmissíveis do Mercosul. II Jornada Internacional de Enfermidades Transmissíveis. Chapecó, Santa Catarina, Brasil, 1998.

Este estudio se realizó entre abril de 1993 a diciembre de 1994, en 44 niños desde su nacimiento y durante los primeros 20 meses de vida.

Fueron analizadas el área geográfica, características socioeconómicas, clínicas y epidemiológicas de la muestra. Muestras fecales fueron recolectadas quincenalmente en visitas domiciliarias semanales del trabajador social.

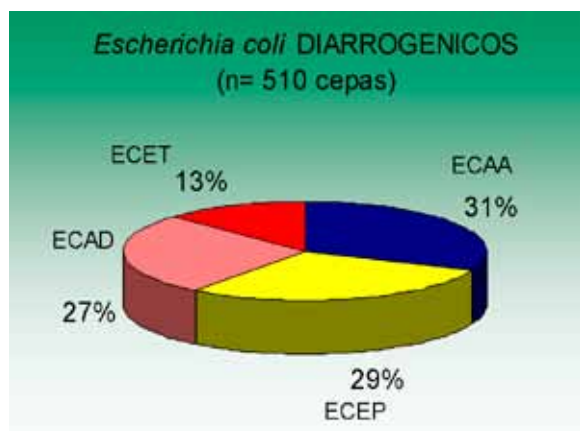
Se realizaron 1760 visitas recolectándose 1524 muestras de heces donde se recuperaron 7620 colonias sospechosas de *Escherichia coli* (*E. coli*) que fueron analizadas para la detección de *E. coli* enteropatógeno (ECEP), *E. coli* enterotoxigénico (ECET), *E. coli* enterohemorrágico (ECEH), *E. coli* enteroinvasivo (ECET) y *E. coli* enteroadherente (ECEA): de adherencia agregativa (ECAA) y de adherencia difusa (ECAD), utilizando métodos biológicos, inmunoenzimáticos y sondas de ADN.

Las variables socioeconómicas analizadas según las Necesidades Básicas Insatisfechas (NBI) del INDEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos), demostraron que las familias de los niños tenían necesidades básicas satisfechas.

Se recuperaron 510 cepas de *E. coli* diarrogénicos: ECAA 31,4%, ECEP 28,8%, ECAD 27,1% y ECET 12,7%

El 100% de los niños presentó infecciones asintomáticas por *E. coli* diarrogénico en algún momento del estudio.

El tiempo promedio (en meses) de aparición de la colonización por *E. coli* diarrogénicos fue de 7,5 meses.



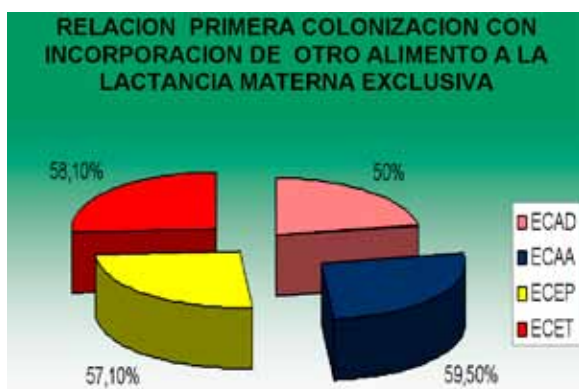
Asymptomatic infections by diarrheagenic *Escherichia coli* in children from Misiones, Argentina, during the first twenty months of their lives

Marina Quiroga, Patricia Oviedo, Isabel Chinen, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Norma Binsztein, Marta Rivas, Lydia Schiavoni, Marta Vergara. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Humanidades y ciencias Sociales, Universidad Nacional de Misiones. Instituto Nacional de Microbiología ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires.

Publicado en Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 4(1):9-15, 2000.

Summary

Diarrheagenics *Escherichia coli* are the major agents involved in diarrheal disease in developing countries. The aim of this study was to evaluate the time of appearance of the first asymptomatic infection by the different categories of diarrheagenic *E. coli* in 44 children since their birth and during the first 20 months of their lives. In all of the children studied, we detected at least one category of diarrheagenic *E. coli* through the 20 months of the study. 510 diarrheagenic *E. coli* (33.5%) were obtained from the 1,524 samples collected from the 44 children during the time of the study (31.4% EAggEC, 28.8% EPEC, 27.1% DAEC, and 12.7% ETEC). Neither EHEC nor EIEC were identified. The median age for diarrheagenic *E. coli* colonization was 7.5 months. The mean weaning period was 12.8 months and the mean age for introduction of mixed feeding (breast fed supplemented) was 3.8 months. A significantly lower incidence of diarrheal disease and asymptomatic infections was recorded among the exclusively breast-fed rather than in the supplemented and non breast-fed infants. For ETEC, EPEC and EAggEC the introduction of weaning foods and complete termination of breast-feeding were associated with an increase of asymptomatic infections



SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Susceptibilidad antimicrobiana de cepas locales de *Shigella* y *Salmonella* en Pediatría de Posadas, Misiones.

Marta Vergara, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Viviana Villalba, Sandra Grenón. Cátedra Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en el II Congreso Internacional de SADEBAC
“Antimicrobianos 90”, Buenos Aires, 1990.

La shigellosis es bastante frecuente en nuestro medio pediátrico y causa una diarrea invasiva con deterioro de la mucosa colónica.

La antibiotico terapia en estas diarreas, reservada a formas graves, debe ser controlada por el riesgo de desarrollo de resistencia (R) plasmídica (1) y que por su inestabilidad cada laboratorio debe elaborar su propio perfil de susceptibilidad. Por este hecho y por presentar Misiones una de las mayores frecuencias de aislamiento de *Shigella* (*Shig.*) y la aparición de nuevas serovariedades de *Salmonella* (*Sal.*) en casos de diarrea, donde el tratamiento no está recomendado sino frente al riesgo de difusión sistémica (1), presentamos nuestros datos de susceptibilidad; siendo éstos, los primeros que se registran en la Provincia.

Entre 1986-1989 se estudiaron los coprocultivos de niños menores de 5 años, con diarrea, sin tratamiento antibiótico previo, concurrentes a Pediatría del Hospital “Ramón Madariaga” de Posadas, Misiones, aislándose 152 cepas de *Shigella* y 36 cepas de *Salmonella*, correspondiendo 130 cepas de *Shig. flexneri* y 15 de *Shig. sonnei*.

Shig. flexneri fue el serogrupo predominante: 85,5%. El segundo lugar le corresponde a *Shig. sonnei*: 9,8%. Las serovariedades de *Shig. flexneri* aisladas fueron: 2, 6, 1, 3; manteniéndose idéntica frecuencia de aislamiento en el periodo de estudio.

Sal. Typhimurium (36%) y *Sal. Enteritidis* (22,2%) son los serotipos que con mayor frecuencia se aislaron. Nuevas serovariedades a nivel mundial en humanos como *Sal. Zaiman* (2) y en República Argentina como *Sal. Hadar* (3) también se detectaron en este período.

A la totalidad de las cepas se le realizó la determinación de la sensibilidad por el método de difusión (4). Los porcentajes de R para *Shig.* y *Sal.* Se muestran en los cuadros 1 y 2 respectivamente.

Shig. dysenteriae solo se detectó en 5 casos con elevada R a ampicilina (AMN) (80%) y timetroprima-sulfametoxazol (TMS) (80%), gentamicina (GEN), Clo-ranfenicol (CMP) y colistina (COL) presentaron 100% de sensibilidad.

Shig. boydii, aislada solo en un caso en 1987 fue sensible solamente a GEN, CMP, neomicina (NEO) y polimixina (POL).

En *Salmonella* nos llama la atención el escaso número de aislamientos en 1989, 1 cepa de *Sal. Typhimurium* y 1 cepa de *Sal. Enteritidis* con S a todos los antimicrobianos probados. Es importante registrar el cierre del Laboratorio por cuestiones técnicas en los dos meses más cálidos ese año.

Concluimos que:

- a) se destaca la alta R de *Shig. flexneri* y *Shig. sonnei* a AMN, TMS y sul-fisoxazol (SFX). b) no encontramos cepas S a todos los antimicrobianos probados, como otros autores. c) la R al SFX fue más elevada que a TMS en todas las cepas. d) la R a CMP fue marcadamente superior en *Shig. flexneri* que en otros serogrupos, mientras que todas las cepas de *Shig. dysenteriae* presentaron S a dicha droga. e) se detectó bajos niveles de R que se mantienen en los cuatro años para GEN y COL, drogas de ineficacia clínica en el tratamiento de la shigellosis (5).
- En *Salmonella* detectamos: a) una marcada S a CMP a excepción de un 66% de R de *Sal. Typhimurium* en el año 1988, hecho que no se reiteró. b) moderada R frente a AMN y más elevada R a TMS. c) también en *Salmonella* encontramos una marcada S a GEN y COL en todas las cepas.
- La R encontrada en nuestras cepas supera a lo publicado por informe CO-BAC 1988.

Cuadro 1: porcentaje de resistencia en *Shigella*

	1986		1987		1988		1989	
	SH. FLEX	SH. SON	SH. FLEX	SH. SON	SH. FLEX	SH. SON	SH. FLEX	SH. SON
	(15)	(6)	(40)	(2)	(25)	(5)	(39)	(-)
AMN	73,3	50	87,5	100	60	80	61,5	
TMS	100	100	92,5	100	76	60	84,6	
SFX	100	100	95	100	96	100	100	
CMP	85,6	16,6	50	0	64	20	42,1	
GEN	6,6	20	2,5	0	4	0	7,6	

Cuadro 2: porcentaje de resistencia en *Salmonella*

	POL	NEO	AMN	CMP	TMS	GEN	SFX	FOS	NOR
1986 (10)	20	33,3	50	20	25	20	90	40	0
1987 (9)	0	0	11,1	0	88,6	0	100	0	0
1988 (12)	0	8,3	50	8,3	58,3	0	91,6	8,3	0

() Número total de cepas.

Bibliografía

1. DEBORNE, B. "Aspectos terapéuticos de las enteritis infecciosas". Enf. Infec. y Microbiol. Clin. Vol. 2. N° 3: 52-56, 1984.
2. VERGARA M., VILLALBA V., AMER L., CENTENO J., LÓPEZ O., EIGUER T., CAFFER M. "Primeros aislamientos de *Salmonella* Zaiman en humanos". Rev. Arg. de Microbiol. Vol. 21, N° 2: 89-91, 1989.
3. VERGARA M., EIGUER T., GRENÓN, QUIROGA M., CAFFER M., PEGELS E. "*Salmonella* Hadar: primeros casos humanos en la República Argentina". Infec. y Microbiol. Clin. Vol 1, N° 3: 93-94, 1989.
4. BAUER A., KIRBY W., SHERRIS J., TURCK M. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method". Am. J. Clin. Pathol. 45:493-496, 1966.
5. CONTRONI G., FRIEDMAN J., FICKE M. "Update of *Shigella* gastroenteritis: changing patterns of antibiotic resistance 1964-1976". 10th ICCAC. p:168-171, 1979.

Sensibilidad de *Escherichia coli* enteropatógenos y enterotoxigénicos aislados de niños con diarrea aguda

Marta Vergara, Eduardo Pegels, Viviana Villalba, Marina Quiroga, Sandra Grenón. Cátedra Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en el II Congreso Internacional de SADEBAC "Antimicrobianos 90", Buenos Aires, 1990.

Es conocido ya que el tratamiento con antimicrobianos no debe realizarse en la diarrea producida por *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP), ni *E. coli* enterotoxigénico (ECET) y que es la corrección de las pérdidas hidroelectrolíticas el principal tratamiento (1). Sin embargo consideramos importante conocer la sensibilidad (S) de estos microorganismos y que se encuentre disponible en caso necesario y poder correlacionar estos datos con los de CIM (trabajo en ejecución).

En el periodo 1986-1989 se aislaron 128 cepas de ECET y 200 cepas de ECEP de coprocultivos de niños menores de 5 años, sin tratamiento antimicrobiano previo; internados y ambulatorios de la Unidad Pediátrica del Hospital "Ramón Madariaga" de la ciudad de Posadas, Misiones.

Las cepas ECEP se identificaron bioquímica y serológicamente encontrándose 15 serotipos, correspondiendo: 42,5% a *E. coli* O111:B4; 12,5% a *E. coli* O55:B5; 7,5% a *E. coli* O86:B7 y 6,55 a *E. coli* O119:B14, entre los más frecuentemente aislados.

Las cepas ECET fueron estudiadas por ELISA para la detección de toxina termo-lábiles (LT) e inoculación en ratón lactante y ELISA con anticuerpos monoclonales para la toxina termo-estable (ST) en la División Inmunología Aplicada del Instituto Nacional de Microbiología "C. Malbrán" de Buenos Aires, previo aislamiento y tipificación bioquímica y serológica realizada por nuestro grupo de trabajo.

Se identificaron 44 cepas formadoras de toxina LT; 71 cepas formadoras de toxina ST y 13 cepas formadoras de toxinas LT y ST.

La determinación de la sensibilidad (S) se realizó por la técnica de difusión de disco (2). Los resultados obtenidos se muestran en los cuadros 1 y 2.

No podemos concluir cuales serogrupos de ECEP mostraron determinado comportamiento frente a algunos antimicrobianos, ya que el mismo fue muy dispar. Solo destacamos la elevada resistencia (R) a ampicilina (AMN), timetroprima-sulfametoxazol (TMS) y sulfisoxazol (SFX) en todos los serogrupos, la baja R a gentamicina (GEN) y el comportamiento muy anárquico frente a cloranfenicol (CMP).

En ECET se destaca moderada y baja R a CMP, GEN, fosfomicina (FOS), polimixina (POL) y colistín (COL) y elevada R a TMS, SFX y AMN, no habiendo diferencias entre las respuestas de cepas toxigénicas LT y ST.

No encontramos como otros autores (3), una marcada disminución de la R frente a CMP en cepas toxigénicas formadoras de ambas toxinas LT + ST; por el contrario la R a CMP de estas cepas tiende a aumentar, manteniéndose los valores sin diferencias significativas.

Concluimos que, “in Vitro” en ECEP encontramos: ineficacia de TMS, SFX y AMN, eficacia de GEN y POL y comportamiento dispar frente a CMP; y en ECET: ineficacia de TMS, AMN y SFX, moderada actividad de GEN, POL y FOS y buena actividad de FOS y GEN en cepas formadoras de LT + ST.

Cuadro 1: Porcentaje de Resistencia en *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)

	1986			1987			1988			1989		
	ETECST	LT	ST+LT	ST	LT	ST+LT	ST	LT	ST+LT	ST	LT	ST+LT
	(10)	(9)	(5)	(19)	(7)	(4)	(28)	(21)	(2)	(14)	(7)	(2)
AMN	70	100	8	100	85,7	100	64	76	50	71	85	100
TMS	50	78	80	84	71	100	64	38	0	64	43	100
SFX	70	100	100	95	86	100	56	50	NP	NP	67	NP
CMP	20	11	40	16	43	50	11	0	50	36	14	100
GEN	30	11	0	5	0	0	11	0	0	7	0	0
FOS	40	30	0	0	0	0	6	0	0	NP	0	NP

(): Número total de cepas, NP: No probado.

Cuadro 2: Porcentaje de Resistencia en *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP)

	1986				1987				1988				1989			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
	(15)	(7)	(3)	(2)	(45)	(6)	(3)	(4)	(9)	(9)	(5)	(5)	(15)	(1)	(3)	(-)
AMN	85	100	100	50	93	83	100	100	100	89	100	60	73	100	100	0
TMS	92	100	50	50	87	83	100	75	50	78	80	60	35	100	100	0
SFX	92	86	50	100	96	83	100	100	100	89	100	60	NP	NP	100	0
CMP	92	14	0	50	33	0	0	25	66	22	43	0	81	0	0	0
GEN	15	0	0	0	4	0	0	25	33	11	0	0	9	0	0	0
FOS	23	14	0	50	18	17	33	50	16	22	0	0	NP	NP	0	0

A: O111:B4, B: O86:B7, C: O55:B5, D: O119:B14. (): Número total de cepas, NP: No probado.

Bibliografía

1. DEBORNE B. "Aspectos terapéuticos de las enteritis infecciosas". Enf. Infecc. y Microbiol. Clin. Vol. 2. N° 3:52-56,1984.
2. BAUER A., KIRBY W.; SHERRIS J.; TURCK M. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method". Am. J. Clin. Pathol. 45:493-496, 1966.
3. FERNÁNDEZ N., SAAB O., CASTILLO M., GUTIERREZ R., ALLORY C., RUIZ C., NADER O., RUIZ HOLGADO A. "Estudio comparativo de susceptibilidad de *E. coli* enteropatógenos y enterotoxigénicos". A7, V Congreso Argentino de Microbiología, 1988.

Susceptibilidad de patógenos entéricos a distintos antimicrobianos en la República Argentina

Ana María Picandet, Esther Patrino, María E. Lesa, Daniel Maurel, Olga Nader, Rodolfo Notario, Marta Rivas, Maritzia Szefer, Marta Vergara, Teresa Eguier, Ariel Depetris, Norma Binsztein, y Grupo de Diarreas*. Secretaría de Ciencia y Técnica (SECYT).

Presentado en el II Congreso Internacional de SADEBAC
“Antimicrobianos 90”, Buenos Aires, 1990.

Entre diciembre de 1985 y diciembre de 1988 se llevó a cabo el Programa Multicéntrico de estudio de diarreas agudas infantiles. Participaron 7 Centros Asistenciales del país: Buenos Aires, Córdoba, La Plata, Mar del Plata, Posadas, Rosario y Tucumán y el Instituto Nacional de Microbiología. Como parte de esta investigación se estudió la resistencia (R) a los antimicrobianos de uso común en infecciones intestinales de 2204 cepas de enteropatógenos aisladas de niños menores de 4 años. Los microorganismos estudiados fueron: *Shigella* (345 cepas), *Salmonella* (200 cepas), *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP 1109 cepas), *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET 531 cepas) y *Aeromonas* (19 cepas). Los antimicrobianos probados por el método de difusión en medio sólido fueron: ampicilina (AMP), cloranfenicol (CMP), trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), sulfisoxazol (SUL), gentamicina (GEN) y fosfomicina (FOS).

Los patrones de R encontrados para *Shigella* fueron semejantes en las distintas regiones. En general, ésta fue elevada para AMP, variando entre 35% en Córdoba y 86% en Buenos Aires. TMS mostró una R superior al 50%, siendo los valores extremos 65% en Mar del Plata y 100% en Buenos Aires. Para CMP la R estuvo comprendida entre 7,1% en Córdoba y 51,3% en Posadas.

Salmonella mostró en general, una tendencia a bajos niveles de R para AMP (26,6%), con excepción de Buenos Aires (67,3%). Para TMS y SUL esos niveles fueron superiores al 50% en Buenos Aires y Posadas., alcanzando en esta última un valor de 100% para SUL. La R a CMP fue baja oscilando entre 5,6% en Posadas y Rosario y 24,3% en Tucumán.

Las cepas de ECEP fueron muy resistentes a AMP, TMS y SUL, variando entre 64,9% y 81%. Se vió baja R a GEN y FOS con valores promedios de 8,2% y 8,7% respectivamente. Los mismos resultados se obtuvieron para ECET, la R a AMP, TMS y SUL fue alta en todas las regiones del país y baja para GEN y FOS. Respecto a *Aeromonas*, es destacable la baja R en todos los lugares donde se aisló, con excepción de Mar del Plata y Posadas que mostraron una R alta a SUL (40 y 33,3% respectivamente).

La susceptibilidad de los enteropatógenos a los antimicrobianos ensayados mostró alta R a AMP, TMS y SUL, baja a GEN y FOS e intermedia a CMP. Respecto a las variaciones regionales es de destacar que el comportamiento fue semejante, a excepción de *Salmonella* con altos valores de R en Buenos Aires.

*Nómina completa de autores en el Programa de SECYT.

Estudio comparativo de la resistencia bacteriana por método cuali y cuantitativo de *Shigella* y *Salmonella* aisladas en Posadas

Sandra Grenón, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en el XI Congreso Latinoamericano de Microbiología; VI Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires 1991.

En nuestro medio pediátrico, las infecciones entéricas por *Shigella*, son altamente preocupantes no sólo por su frecuencia (una de las más altas del país (1)), sino por la resistencia que estos gérmenes han desarrollado a los antimicrobianos de uso corriente. Por este hecho y por el aislamiento de nuevas serovariedades de *Salmonella* (2)(3) en estas infecciones, se hace necesario conocer la evolución de la susceptibilidad de estos gérmenes frente a los antibióticos de uso en los últimos años. Por ello, presentamos este estudio, entre abril de 1986 y abril de 1990, donde se seleccionaron 96 cepas de *Shigella* y 26 cepas de *Salmonella*, a fin de comparar además, el método cuantitativo (determinación de la concentración inhibitoria mínima CIM) recientemente implementado, con la metodología clásica (método cualitativo: difusión de Kirby-Bauer) a fin de evaluar la conveniencia de su incorporación como método de rutina.

Sabemos que la CIM de una sustancia antimicrobiana frente a cualquier microorganismo está sujeta a variaciones que dependen de factores como el medio de cultivo usado, la metodología y hasta la procedencia de las cepas analizadas (4) hechos que pueden explicar la buena o no correlación entre ambos, ya que estos factores también influyen en el método cualitativo.

Las cepas seleccionadas fueron aisladas de heces de niños con diarrea, todos menores de 5 años y sin tratamiento antibiótico previo, consultantes al Hospital "Madariaga" de Posadas, Misiones. La prueba de sensibilidad cuantitativa se realizó según método de difusión de Kirby-Bauer, y se siguieron las normas del M7-T NCCLS para la realización del método cualitativo (dilución en placa).

Los cuadros 1 y 2 muestran los porcentajes de resistencia (R) para *Shigella* y *Salmonella* y su evolución en el curso de 4 años, por el método cuantitativo y cualitativo, respectivamente.

Cuadro 1				
	SHIGELLA SPP.		SALMONELLA SPP.	
	86-88 (17)	88-90 (79)	88-88 (12)	88-90 (14)
AMN(R≥32 UG/ML)	13(76,4%)	46(58,2%)	2(16,6%)	2(14,3%)
GEN(R $\frac{8}{152}$ ≥ UG/ML)	3(17,6%)	1(1,2%)	0(0%)	1(7,14%)
AMN(R≥8 UG/ML)	16(94,1%)	73(92,4%)	1(8,3%)	2(14,3%)
CMP(R≥32 UG/ML)	8(47,0%)	39(49,3%)	0(0%)	0(0%)
Ampicilina (AMN), Gentamicina (GEN), Cloranfenicol (CMP), Trimetoprima-Sulfimetoxazol (TMS).				

Cuadro 2				
	SHIGELLA SPP.		SALMONELLA SPP.	
	86-88 (17)	88-90 (79)	86-88 (12)	88-90 (14)
AMN(R≤11 MM)	14(82,3%)	44(55,7%)	2(16,6%)	2(14,3%)
GEN(R≤12 MM)	0(0%)	2(2,5%)	0(0%)	1(7,1%)
AMN(R≤10 MM)	16(94,1%)	64(81,0%)	5(41,6%)	3(21,4%)
CMP(R≤12 MM)	8(47,0%)	37(46,8%)	0(0%)	0(0%)
() Número total de cepas.				

En general:

- observamos una disminución de la R en *Shigella* para AMN, manteniéndose el nivel para CMP en el tiempo. En el segundo período de estudio: falta de correlación entre ambos métodos para TMS, manteniéndose los niveles de susceptibilidad cuando la misma se determinó por el método de CIM.
- En *Salmonella* también se observa una disminución de la R frente a AMN, manteniéndose el nivel de susceptibilidad para CMP en el período de estudio. La coincidencia de los resultados por ambos métodos fue total para

AMN, GEN y CMP. Como en *Shigella*, observamos falta de correlación en TMS, lo que puede deberse a problemas de conservación de discos.

- 10 cepas de *Shigella* (Sh.) *sonnei* incluidas en este estudio mostraron menor nivel de R en general que *Sh. flexneri*. Fueron TMS y AMN las drogas frente a las cuales la totalidad de las especies de *Shigella* se comportaron con mayor nivel de R, hecho que fuera detectado ya por otros autores (5). Cabe señalar que se observó una buena correlación entre el método de disco y CIM para *Shigella* spp. siendo total en las cepas de *Sh. sonnei*.

Bibliografía

1. BINSZTEIN N., DEPETRIS A., EIGUER T., MAUREL D., NADER O., NOTARIO R., NOVILLO A., PICANDET A.M., RIVAS M., SZEJNER M., VERGARA M. Proyecto Colaborativo Multicéntrico. Enteropatógenos asociados a Diarrea Aguda Infantil, en Argentina. V Congreso Argentino de Microbiología, Mar del Plata, noviembre de 1988.
2. VERGARA M., EIGUER T., GRENÓN S., QUIROGA M., CAFFER M.I., PEGELS E., VILLALBA V. "Salmonella Hadar: primeros casos humanos en la República Argentina". Infectología & Microbiología Clínica. 1:3:45-46, septiembre, 1989.
3. VERGARA M., EIGUER T., VILLALBA V., RAMBALDO L., CAFFER M.I. "Primer aislamiento de *Salmonella* Zaiman en Humanos", Rev. Arg. Microbiol. 21:2:89-90, 1989.
4. GREENWOOD D. In vitro veritas? Antimicrobial susceptibility test and their clinical relevance. J. Infect. Dis. 1981, 144:330-385.
5. GIUANO S., ALTSCHULER M., PICANDET A.M., ETCHAVARRÍA M. "Resistencia a antimicrobianos de cepas de *Shigella* aisladas en La Plata". A-19. V Congreso Argentino de Microbiología. Mar del Plata, 1988.

Susceptibilidad de cepas locales de *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI)

Sandra Grenón, Marta Vergara, Hugo Macaya. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en III Congreso Internacional de la Sociedad Argentina de Bacteriología Clínica (SADEBAC). Antimicrobianos '93, Buenos Aires, 1993.

Si bien es escaso el número de diarreas que requieren tratamiento antimicrobiano (1), las producidas en cierto tipo de huéspedes (menores de 6 meses, inmunocomprometidos, etc.), son pasibles de tratamiento antibiótico. El grado de severidad producido en algunos casos por ECEI hizo necesario definir el perfil de sensibilidad en estas bacterias.

35 cepas de ECEI caracterizadas bioquímicamente y por ELISA (2) (técnica provista por la Dra. Norma Binsztein del Instituto Nacional de Microbiología "Malbran" (INM), fueron seleccionadas a fin de evaluar susceptibilidad a antibióticos de uso frecuente en nuestro medio por las técnicas de difusión y dilución en medio sólido según normas del NCCLS.

Los resultados obtenidos se muestran en cuadro 1.

Se destaca:

- La eficacia de GEN, CMP y CTN y regular actividad de AMN y TMP.
- Se obtuvo una correlación del 100% para ambas técnicas excepto en los casos de AMN y TMS.
- La resistencia a TMS estuvo acompañada de resistencia a AMN en un 100%.

- No registramos cifras de R a uno a más antibióticos elevadas como la encontrada por Faundez en Chile en el 80% de las 20 cepas de ECEI incluidas en el estudio (3).

Agradecemos a la Dra. Norma Binsztein del INM, quien confirmara el diagnóstico de ECEI de las cepas remitidas.

Cuadro 1

	KIRBY-BAUER		DILUCIÓN	
	nR	%	nR	%
GEN	0	0,0	0	0,0
CTN	2	5,7	2	5,7
AMN	14	40,0	16	45,7
CMP	1	2,9	1	2,9
TMS	12	34,3	14	40,0

GEN: Gentamicina, CTN: Cefalotina, AMN: Ampicilina, CMP: Cloranfenicol, TMS: Trimetoprima-Sulfametoxazol.
 nR = Número de cepas resistentes. %R = Porcentaje de cepas resistente / Número total de cepas estudiadas.

Bibliografía

1. Manual de Tratamiento de la diarrea. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana Regional de la OMS. 13, 1987.
2. PAL T., PACSA A.S., EMODY L., VOROS S., SELLEY E. Modified immunosorbent assay for detecting enteroinvasive *Escherichia coli* and virulent *Shigella* strains. J. Clin. Microbiol., 21: 415-18, 1985.
3. FAUNDEZ G., FIGUEROA G., TRONCOSO M. CABELLO F.C. Characterization of enteroinvasive *Escherichia coli* strains isolated from children with diarrhea in Chile. J. Clin. Microbiol. 26(5): 928-932, 1988.

Perfil bioquímico y de resistencia a antimicrobianos en cepas argentinas de *Escherichia coli* enterotoxigénico

Isabel Chinen, Ana María Picandet, Daniel Maurel, D. Gómez, Marta Vergara, Marina Quiroga, Rodolfo Notario, Noemí Borda, M. L. Cacace, T. Ayala, Anne-Marie Svennerholm, Norma Binsztein y grupo participante en el Proyecto *E. coli*. Instituto Nacional de Microbiología “Carlos G Malbran”. Hospital Sor Maria Ludovica (La Plata). Instituto Nacional de Epidemiología (Mar del Plata). Universidad Nacional de Misiones (Posadas). Facultad de Ciencias Medicas (Rosario). Hospital San Vicente de Paul (Orán). Universidad de Göteborg (Suecia).

Presentado en VII Congreso Argentino de Microbiología.
Buenos Aires, 1995.

Escherichia coli enterotoxigénico (ECET) es un importante agente causal de diarrea en niños en países en desarrollo.

Se ha postulado que el biotipo, el serotipo y la capacidad de producir toxina se halla codificado en el mismo plásmido. Orskov (1) ha demostrado que las cepas de ECET aisladas de diarrea pertenecen a un número reducido de serotipos distintos de los otros *E. coli* diarreicogénicos. Varios autores han informado que un patrón de fermentación específico está asociado con un serotipo dado (2).

Los objetivos fueron.

- a. Tratar de definir un biotipo característico para ECET que correlacione con la capacidad de producir toxina
- b. Determinar si existen características locales respecto a los serogrupos y perfiles bioquímicos y de resistencia a los antimicrobianos, en los aislamientos ECET obtenidos de pacientes que fueron atendidos en distintas instituciones del país.

Se procesaron 93 aislamientos de ECET productores de toxina lábil al calor (LT) y/o toxina estable al calor (ST); 36 aislamientos de *E. coli* no ECET que presentaron adherencia localizada, difusa o agregativa en células HeLa; y 11 cepas de

E. coli enteroinvasivo (ECEI). Las muestras ECET fueron enviadas desde: Orán (n=33), Posadas (n=23), Rosario (n=16), Mar del Plata (n=11) y La Plata (n=10).

Se estudió la fermentación de: lactosa, glucosa, manitol, sacarosa, salicina, dulcitol, inositol, adonitol, rafinosa, sorbitol, arabinosa, ramnosa, xilosa, trehalosa, inulina, glicerol, celobiosa, sorbosa y maltosa; la utilización de mucato de sodio; la decarboxilación de lisina y ornitina; y la producción de sulfhídrico según Edwards & Ewings (E.E).

Todos los aislamientos se agruparon serológicamente con antisueros somáticos Denka Seiken.

El perfil de resistencia se determinó frente a ampicilina (AMN), ampicilina sulbactama (AMS), piperacilina (PIP), cefalotina (CEF), cefoxitina (CXT), cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), gentamicina (GEN), amikacina (AKN), tetraciclina (TET), trimetoprima (TM), trimetoprima sulfametoxazol (TMS), norfloxacin (NOR), nitrofurantoina (NIT), cloranfenicol (CMP) y fosfomicina (FOS) por el método de difusión por disco según Kirby Bauer (NCCLS).

Biotipo: Los resultados de las pruebas bioquímicas se compararon con los de *E. coli* según E.E., aplicando el Test Exacto de Fisher o Chi-Cuadrado con la corrección de Yates. En ECET se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la utilización de dut, ado, ram, xil, gli, sorb, muc, lis y orn ($p<0,01$) y celo ($p<0,05$), observándose 84 biotipos diferentes. En no ECET las diferencias fueron estadísticamente significativas para celo, mal, muc y orn ($p<0,01$), resultando 33 los biotipos observados.

Para ECEI la diferencia fue significativa a un nivel del 1% para lis, sac, sal y producción de gas de glu y gli; y del 5% para muc y dul. Se obtuvieron 4 biotipos.

Comparando ECET con no ECET solo se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para dul ($p<0,01$) y sor ($p<0,05$).

Serogrupos: Se seroagruparon 33 aislamientos. 26 de ECET correspondieron a O128 (n=5), O6 (n=4), O29 (n=3), O44 (n=3), O153 (n=3), O55 (n=2), O159 (n=2), O127a, O46, O125 y O115 (n=1); 2 de no ECET resultaron O125, 5 de ECEI fueron O28ac (n=2), O46, O18 y O124 (n=1). Se obtuvieron distintos perfiles bioquímicos para cada serogrupo.

Antibiotipos: la resistencia fue 75,3% para AMN; 47,3%-57% para AMS, PIP, CEF, TET, TMS y TM; y para CXT, CTX, CAZ, GEN, AKN, NOR, NIT, CMP y FOS los porcentajes obtenidos fueron menores.

Para las amino y ureido penicilinas probadas, los mayores niveles de resistencia se observaron en La Plata (10/10 y 7/10 respectivamente). En Mar del Plata, La Plata y Orán los aislamientos fueron sensibles frente a CTX y CAZ. Prácticamente no hubo resistencia en los aislamientos estudiado para GEN, AKN (1/23 Posadas) y NOR (1/23 Posadas y 1/33 Orán).

Conclusiones

No se encontró un biotipo que se correlacione con la capacidad de producir toxina, sin embargo la no fermentación de dulcitol podría ser un marcador bioquímico que sugiera la presencia de ECET.

Los aislamientos de ECEI presentaron baja actividad bioquímica con respecto al resto de los *E. coli* estudiados.

No hubo un serogrupo prevalente. Algunos de ellos fueron diferentes a los informados para ECET en otros países.

Se observaron distintos perfiles de resistencia en los aislamientos obtenidos de hospitales de diferentes zonas del país.

Bibliografía

1. ORSKOV AND ORSKOV. Med. Microbiol. Immunol. 163:99, 1977.
2. REIS M.H.L., MATOS D.P., CASTRO A.F., TOLEDO M.R.F., TRABULSI L.R. Infect. Immun. 28:24, 1980.

Behavior of *Aeromonas* spp. isolates from children with and without diarrhea against carbapenems and new cephalosporins

Marina Quiroga, Marta Vergara, Eduardo Pegels, Adriana Fernandez Laussi, Alicia Farinati. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Universidad Católica Argentina.

Presentado en 1st World Congress of Pediatric Infectious Diseases, Acapulco, México, 1996.

In a previous study we demonstrated that 19/49 (38.8%) *Aeromonas* spp. isolates from clinical samples have inoculum effect (IE) with imipenem (IMP) and meropenem MER and new cephalosporins, cefepime (FEP) and ceftazidime (CPO). The 19 isolates were selected from 49 strains from children with and without diarrhea living in Posadas, Misiones, Argentina: 8 *A. hydrophila*, 6 *A. caviae*, 3 *A. veronii* biovar *veronii*, 2 *A. veronii* biovar *sobria*. The susceptibility test to β -lactam antibiotics (bLA), including FEP, CPO, aztreonam (AZT), IMP and MER were determined by standard disk diffusion method and NCCLS recommendation, antibiotics were determined by standard disk diffusion method and NCCLS recommendation, MICs to IMP and MER by an agar dilution technique with inoculum of 10^4 - 10^5 cfu (CI) and 10^8 - 10^9 cfu (LI). The cephalosporinase induction was studied with cefoxitin (FOX) and carbapenemase induction with 30U of penicillin by disk tests. Inhibitory characteristics of carbapenemase activity of isolates with IE were performed with FOX (30ug) and EDTA disks (20, 10, 5 and 2.5 ug) as well as single streaks of 10 mM EDTA over inoculated plate of isolate to be tested and a IMP and MER disks are placed just over the streaks. After overnight incubation a positive test will appear an inhibition zone in the conjunction area bigger than the rest. Results: all were resistant (R) to aminopenicillins and with inhibitors, all were susceptible (S) to AZT, 3GC (only 3/19 were R to cefoperazone - CPZ), FEP and CPO. The S with other bL was variable. Against IMP (range 0.5- 8 mg/l), all were S by disk with CI and only one was moderately susceptible (MS) by MIC. With LI, 8/19 were R; 3/19 MS by disk and 6/19 go to MS by MIC (8mg/l). With MER all isolates were S (range 0.12-4 mg/l). The IE was detected in 10/49 and only 5/19 go to MS by MIC. FOX was a good

inducer in FOX-R isolates (12/19) of β -lactamases hydrolyzing 3GC but not IMP or MER; CPZ was the most affected; FEP and CPO proved to be stable against these inducible enzymes. We couldn't demonstrate the induction with FOX in the FOX-S isolates nor the carbapenemase activity through penicillin disks. FOX increased the inhibition halo of IMP and MER in 8/12 FOX-R isolates and EDTA disks in 18/19 isolates ("eye effect"). When compared the EDTA activity against isolates without IE (*A. jandaei* R to IMP and MER and to others 30 isolates S to IMP) we couldn't observe that increment. Our data suggest that IMP and MER are a weak substrate for Class C (or 1) of *Aeromonas* spp. Probably the IE were due to enzymes encoded by *cphA* or *cphA* homolog. We proved with a simple method that any clinical *Aeromonas* spp. can hold the carbapenemase activity that can lead to treatment failure and moreover, such isolates would act as genetic reservoirs and to spread the resistance to carbapenems due to their environmental presence.

Genetic Reservoirs?

Submitted by José Bodino, Argentina

Publicado en The Pediatric Infectious Disease Journal
International Newsletter, Volume 3, Number 3, 1996.

Aeromonas species are environmental Gram-negative bacilli found mainly in lakes, rivers and soil and produce occasionally soft tissue infections and sepsis. They have been increasingly associated with diarrheal disease in adults and children and even with hemolytic-uremic syndrome. There are many recognized species and recent data suggest that there are interspecies variations in causing disease or associated with antibiotic susceptibility profiles. A point of serious concern is the appearance of imipenem resistant isolates caused by inducible beta-lactamases; these strains could work as genetic reservoirs of carbapenem resistance. Farinati A., Vergara M., et al. from the Catholic University of Buenos Aires, report a total of 49 isolates: 25 from feces of children with diarrhea, one from blood of a child with sepsis and 23 from feces of children without diarrhea in the same community. Thirty nine percent of *Aeromonas* spp. had an inoculum effect with imipenem (IMP) and meropenem (MER) by in vitro testing. This phenomenon was attributed to the presence of beta-lactamase hydrolyzing carbapenems and the investigators could not demonstrate its induction with penicillin. Despite the presence of carbametalloenzymes, all the positive strains, except one, *Aeromonas jandaei*, remained susceptible to IMP and all were uniformly susceptible to MER. Present data suggest that carbapenemase activity could lead to treatment failure in infections with large inocula and it is advisable to perform susceptibility testing in these cases. Resistance of *Aeromonas* spp. to the carbapenems could have significant implications for the management of severe infectious diseases in the future.

Antimicrobial activity in *Aeromonas* spp. isolated from children with and without diarrhea

Marta Vergara, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Adriana Fernandez Laussi, Alicia Farinati. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Universidad Católica Argentina.

Presentado en 7th International Congress for Infectious Diseases, Hong Kong, China, 1996.

Aeromonas spp. are environmental gram-negative bacilli found particularly in lakes, rivers, and soil and may produce occasionally soft tissue infections and sepsis in immunocompromised host and increasingly have been associated with diarrheal disease in adults and children. There are many recognized genospecies but recent data suggest that there are interspecies variations either to cause disease or in sensitivity profiles and moreover, many of them can produce metallo-carbapenemase activities.

Aim

1- to establish the sensitivity profiles of *Aeromonas* spp. belonging to different species isolated from children with and without diarrhea; 2- to study the inoculum effect (IE) in the imipenem (IMP) and meropenem (MER) activity; 3- the ability of ceftiofur (FOX) to induce chromosome beta lactamases in these strains and their activity on different cephalosporins.

Organisms

A total of 49 *Aeromonas* isolates consisting of 25 from the feces of children with diarrhea (DP) in Misiones (Argentina), 1 from septic case and 23 from feces of children without diarrhea (DN) and under control since birth, from the same community, were examined in the present study. Only 5 children had previous

antibiotic treatment. The species of the *Aeromonas* isolates were determined by the Criteria of Popoff and Janda and Aerokey II of Carnahan: *A. hydrophila* (13) (Ah); *A. caviae* (23) (Ac); *A. veronii* biovar *sobria* (8) (Avs); *A. veronii* biovar *veronii* (3) (Av); *A. schubertii* (1) (As) and *A. jandaei* (1) (Aj). Among pathologic and DN cases we detected Ah (9) and (4); Ac (9) and (14); Avs (6) and (2); Avv (1) and (2) respectively; As (1) and Aj (1) in DP and DN cases respectively.

In vitro susceptibility tests

The susceptibility to all antibiotics (aminopenicillin -AMP-; AMP-clavulanic acid and sulbactam-AMPi-; cephalosporins-first, second and third generation-1GC, 2GC, 3GC-; cefepime-FEP-; ceftiofime-CPO-; cefixime-CEF-; -FOX-; piperacillin-PIP-; PIP-tazobactam-TAZ-; -IMP-; aztreonam-AZT-; aminoglycosides-AG-; fluorquinolones-FQ-; nitrofurans-NF-; chloramphenicol-CL-; cotrimoxazol-TMS-; rifampicin -RF-; fosfomycin-FO-) was determined by standard disk diffusion method and MICs to IMP and MER by an agar dilution technique and conventional inoculum (10^4 - 10^5 cfu) and with larger inoculum (10^8 - 10^9 cfu). The zones of inhibited growth and breakpoint concentrations for susceptibility and resistance were based on the criteria of NCCLS and on our own criterion (SADEBAC) for 3GC. *Beta-lactamase testing*: was determined by the chromogenic cephalosporin substrate method with nitrocefin disks. *Induction*: we study the beta-lactamase induction with FOX, IMP and penicillin 30 UI -PL-, with disk tests.

Results

testing with disks 47/49 (96%) were resistant to AMP and 41/49 (86%) to AMPi; PIP (63% R) and TAZ (51% R) showed variable activity against isolates of each species; 2GC (53% S) are more active than 1GC (27% S); all were S to AZT and 3CG, except for a few isolates R to cefoperazone-CPZ-; full S to FEP and CPO and 33/49 (67%) to FOX. Two Ac, 1 Ah and Aj, 4/49 (8%). were R to IMP but only Aj was R by MIC. FQ, AG, NF, TMS, CL and FQ showed high activity against almost all isolates but RF, very low activity (6% S). The inoculum effect (IE) was found in 19/49 (6 Ac, 7 Ah, 2Avs, 1Avv) (38.8%) by disks and only in 3 of these was confirmed by MIC. All isolates were uniformly S to MER: range <0,008-4 mg/l and the IE was found in 10/49 (Ah4, Ac3, Avv3) (20%) more effectively than with IMP. Among these, there are the strains with IMP-IE. FOX was a good inducer of betalactamases hydrolyzing 3GC but not IMP; against CPZ was a strong inducer but failed with FEP that proved to be stable against inducible

betalactamase. We couldn't demonstrate the induction with FOX in the FOX-S isolates or the production of carbapenemase activity through induction with PL disks. No significant differences in S were observed between DP and DN isolates or among the species. The in vitro results show the tendency of beta-lactam resistance and the diversity of hydrolyzing enzymes but newer beta-lactam antibiotic such as FEP and AZT offer good therapeutic perspectives. Taking into account the IE to prove the carbapenemase activity that can lead to treatment failure; it is advisable to always perform susceptibility testing with large inocula.

Our data suggest that carbapenemases: 1- are not related with cephalosporinase (Class C-betalactamase). IMP and MER would be a weak substrates for Class C (or I) enzymes of *Aeromonas* spp., 2- probably are Class B enzymes encoded by *cphA* genes or *cphA* homolog as was demonstrate by Rossolini et al. in the genus *Aeromonas*.

Comportamiento de aislamientos pediátricos de *Aeromonas* spp. frente a antibióticos betalactámicos

Marta Vergara, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Adriana Fernandez Laussi, Alicia Farinati. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Universidad Católica Argentina.

Presentado en 2º Congreso Argentino de Infectología Pediátrica, Buenos Aires, 1996.

Aeromonas spp. , bacilos gram negativos que radican naturalmente en diferentes nichos acuáticos son capaces de producir patologías importantes, particularmente las asociadas al tracto gastrointestinal y a sepsis. El ingreso al organismo se efectúa por ingestión o trauma y su virulencia está condicionada por factores de adherencia, invasividad y toxigénicos. Las características geográficas de Posadas y la frecuencia de su aislamiento; nos llevó a profundizar el análisis de estos microorganismos.

Objetivo

Evaluar el comportamiento frente a antibióticos (AB) betalactámicos (BL) de *Aeromonas* spp. recuperadas de niños con y sin diarrea (D-ND respectivamente) de la ciudad de Posadas. Se estudiaron 49 aislamientos provenientes de heces, 26 de niños con D y 23 niños ND. Estos últimos formaron parte del control periódico de infección y enfermedad desde su nacimiento y durante los 2 primeros años de vida. Solo 5 de todos los niños recibieron tratamiento AB previo. Identificación bioquímica se efectuó según criterios de Popoff y Janda y el Aerokey II de Carnahan: *A. hydrophila* (Ah) (13); *A. caviae* (Ac) (23); *A. veronii* biovar *sobria* (Avs) (8); *A. veronii* biovar *veronii* (Av) (3); *A. schubertii* (As) (1) y *A. jandaei* (Aj) (1). La presencia de enterotoxinas, según el esquema de Burke: 12/26 (46.2%) y 4/23 (17.4%) aislamientos se comportaron como toxigénicos en los grupos D y ND, respectivamente. La determinación de la sensibilidad frente a todos los AB (aminopenicilina, AMP; AMP con inhibidores de betalactamasas, ácido clavulá-

nico, sulbactama, AMPi; cefalosporinas de 1era., 2da. y 3era. generación, C1G, C2G y C3G; cefepima, FEP; piperacilina, PIP; PIP con tazobactama, TAZ; imipenem, IMP; aztreonam. AZT; y otros AB, aminoglucósidos, fluorquinolonas, nitrofuranos, cloranfenicol, cotrimoxazol, rifampicina, fosfomicina) se efectuó por la técnica de difusión con discos y la CIM frente a IMP y meropenem (MER) de acuerdo a la técnica de dilución en agar con inóculo convencional de 10^4 - 10^5 UFC/ml. Los diámetros de los halos de inhibición y los puntos de corte para las concentraciones que definen sensibilidad (S) y resistencia (R) se basaron en las recomendaciones del NCCLS y nuestros propios criterios (SADEDAC) para las C3G. La determinación de betalactamasas (blasas), se realizó con nitrocefina (cefalosporina cromogénica) y la inducción de blasa fue estudiada con FOX, IMP y discos de 30 UI de penicilina (PL). Mediante la técnica de discos, 47/49 (96%) fueron R a AMP y 41/49 (86%) a AMPi, PIP y TAZ mostraron actividad variable en los aislamientos de las diferentes especies, 63 y 51% S. Las C2G fueron en general más activas (aún con diferentes grados entre ellas) que las C1G, 53% vs. 27% S. Todos fueron S a AZT y a las C3G, con excepción de unos pocos que fueron R a cefoperazona (CPZ). Hubo S total frente a FEP y CPO y el 67% fue S a FOX. Con respecto al IMP, 4 aislamientos resultaron R (2 Ac, 1 Ah y 1 Aj) mediante discos pero solo Aj lo fue por CIM. Todos fueron uniformemente sensibles a MER por CIM (rango ≤ 0.008 -4 mg/l). FOX fue un buen inductor de blasas con actividad sobre las C3G y otros BL pero no sobre IMP; CPZ fue el AB más afectado por el mecanismo de inducción y FEP demostró ser totalmente estable frente a esas blasas inducibles. No pudimos demostrar la inducción en los aislamientos FOX-S, como tampoco la actividad carbapenemasa inducida con discos de PL. Los otros AB tuvieron un comportamiento variable. No encontramos diferencias en el comportamiento de los AB frente a los aislamientos D y ND, como tampoco entre las especies.

Destacamos: *hay S uniforme al AZT, *estabilidad de FEP frente a cefalosporinas cromosómicas (clase C de Ambler); *los BL resultaron ser sustratos variables. Nuestros resultados sugieren que la terapéutica con BL de infecciones por *Aeromonas* spp. debe ser evaluado en cada caso ya que muestran tendencia a la R y a la producción de un grupo heterogéneo de enzimas que hidrolizan a los diferentes BL.

Es probable que frente a un mismo AB actúen varias enzimas y puede haber sumatoria de efectos en la aparición de la R.

Actividad de carbapenemasas en *Aeromonas* spp de origen pediátrico. Valor del efecto inóculo

Marta Vergara, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Adriana Fernandez Laussi, Alicia Farinati. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Universidad Católica Argentina.

Presentado en 2º Congreso Argentino de Infectología Pediátrica, Buenos Aires, 1996.

Aeromonas spp. han sido recuperadas de infecciones sistémicas y principalmente de infecciones gastrointestinales en menores de tres años, aunque se discute el rol que juega en las mismas. Sin embargo han sido descritos factores de virulencia para este grupo de microorganismos que incluyen hemolisinas, citotoxinas, enterotoxinas, invasividad celular, como también fueron involucrados en la producción del SHU (Bogdanovic, 1991). Es importante destacar que *Aeromonas* spp. es uno de los pocos grupos de bacterias dentro del que algunas especies, por lo menos hasta el momento, han demostrado actividad carbapenemasa, pudiendo llegar a constituirse en un verdadero reservorio genético de estas enzimas. Es por ello nuestro interés en investigar la probable presencia de las mismas en *Aeromonas* spp. recuperadas de heces provenientes de niños con y sin diarrea (D-ND). Se estudiaron 49 aislamientos de *Aeromonas* spp. (*A. hydrophila*-Ah 13; *A. caviae*-Ac 23; *A. veronii sobria*-Avs 8; *A. veronii veronii*-Avv 3; *A. schubertii*-As 1; *A. jandaei*-Aj 1). De estos, 26 correspondieron a niños con D, no encontrándose ningún otro patógeno asociado en 16. La determinación de la sensibilidad se efectuó por método de discos frente a imipenem (IMP) y otros antibióticos (AM) beta-lactámicos, y mediante CIM para IMP y meropenem (MER) con inóculo convencional (10^4 - 10^5 UFC/ml). Los diámetros de los halos de inhibición y los puntos de corte para la interpretación de la sensibilidad (S) y de la resistencia (R), se basaron en las normas del NCCLS. Efecto inóculo (EI): se determinó mediante discos y CIM para IMP y CIM para MER, utilizando un inóculo 10^8 - 10^9 UFC/ml. Actividad inhibitoria de cefoxitina (FOX) sobre carbapenemasas: se demostró mediante la interacción de FOX y de IMP con la técnica de discos analizando el aumento de diámetro del halo de inhibición para IMP. De las 49

cepas estudiadas, 4 resultaron R a IMP por discos (2 Ac, 1 Ah, 1 Aj). Todas estas fueron sensibles a C3G, cefepima y aztreonam. Solo Aj fue R a CIM, teniendo las tres restantes S intermedia (SI) (8 mg/l). Todos los aislamientos fueron uniformemente S a MER por CIM (rango = <0.008 -4 mg/l). El EI para IMP se demostró en 19/49 (38.8%) aislamientos: 6 Ac, 8 Ah, 2 Avs, 3 Avv, por disco, pero sólo 3 de estos fueron confirmados por CIM. El EI con MER se encontró en 10/49 (20.4%): 4 Ah, 3 Ac y 3 Avv, más efectivamente que con IMP ya que hubo diferencias mayores entre las CIM obtenidas con bajo y alto inóculo. Dado que los rangos de CIM de MER fueron menores que los de IMP, aún producido el efecto inóculo, los aislamientos se mantuvieron “in vitro” S al MER mientras que pasaron a tener SI al IMP. El aumento del halo de inhibición de IMP al interactuar con FOX, se demostró en por 10 menos 7 de los aislamientos: 2 Ah, 3 Ac, 1 Avv, 1 Aj, lo que sugiere actividad imipenemasa en las mismas. Destacamos la necesidad de vigilar el comportamiento de estos aislamientos frente a carbapenemas por el valor que pueden tener como reservorios genéticos de enzimas hidrolíticas. Nuestros resultados sugieren la presencia de las mismas en por lo menos el 14.3-38.8% de los aislamientos (según la técnica empleada). A pesar que muchos mantienen S “in vitro”, la presencia de carbapenemasas puede llevar a fracasos terapéuticos. Sería importante que frente a estos fracasos, se efectúe un antibiograma con un inóculo mayor al convencional.

Actividad de ciprofloxacina (CIP) frente a aislamientos de *Escherichia coli* enterotoxigenica y *Aeromonas spp.* recuperadas de heces de niños con y sin diarrea

Eduardo Pegels, Marina Quiroga, Patricia Oviedo, Elizabeth Husulak, Marta Vergara, Alicia Farinati. Universidad Nacional de Misiones. Universidad Católica Argentina.

Presentado en I Congreso Internacional de Infectología y Bacteriología Clínica (SADI-SADEBAC), III Congreso de Infectología del Mercosur, I Congreso de Infectología Pediátrica del Mercosur y I Congreso de Microbiología del Mercosur, Buenos Aires, Argentina, 1997.

Si bien el uso de quinolonas fluoradas (QF) no esta autorizado aun en pediatría, es necesario y relevante conocer la sensibilidad de los aislamientos de origen pediátrico frente a las QF, pues estas constituyen alternativas importantes en la terapéutica de infecciones severas o que requieran tratamientos breves como la diarrea.

Objetivo

Estudiar el comportamiento de aislamientos provenientes de heces de niños menores de dos años con y sin diarrea de la zona de Posadas y alrededores, en la provincia de Misiones.

Cepas y metodos

Estudiamos la sensibilidad de 190 aislamientos (143 cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas (ECET) y 47 cepas de *Aeromonas spp.*). El 74,1 % (106/143) de las cepas de ECET eran productoras de toxina termolábil (LT), el 13,9 % (20/143) de toxina termoestable (ST) y el 11,9 % (17/143) de ambas toxinas (LT/ST). Entre las especies de *Aeromonas* se incluyeron: 20 *A. caviae*, 17 *A. hydrophila*, 7 *A. veronii biov. sobria*, 2 *A. veronii biov. veronii* y 1 *A. schubertii*. Todos los microorganismos provinieron de niños con y sin diarrea. La sensibilidad frente a CIP se determinó por el método de dilución en medio sólido, según normas del NCCLS.

Resultados

Los resultados obtenidos se observan en las tablas 1 y 2. Todas las cepas estudiadas presentaron valores de CIM muy por debajo del punto de corte que se tiene en cuenta para cepas sensibles de bacilos gram negativos. La CIM90 fue 0,06 y 0,03 mg/L para *Aeromonas spp.* y ECET respectivamente.

No se registraron diferencias de sensibilidad frente a CIP entre las especies de los aislamientos de *Aeromonas spp.* estudiadas ni entre las distintas cepas de ECET según el tipo de toxina producida.

Tabla 1: CIM (mg/L) para Ciprofloxacina frente a 47 cepas de *Aeromonas spp.*

CIM	0,001	0,002	0,004	0,008	0,0016	0,03	0,06
Nº DE CEPAS	1	7	4	6	8	7	14
%	2,1	14,9	8,5	12,8	17,0	14,9	29,8

Tabla 2: CIM (mg/L) para Ciprofloxacina frente a 143 cepas de ECET

CIM	0,008	0,0016	0,03	0,06
Nº DE CEPAS	19	67	45	12
%	13,3	46,8	31,5	8,4

Comentario

Los valores de CIM obtenidos permiten inferir un elevado poder inhibitorio a nivel de la mucosa intestinal. Estos datos unidos a la actividad rápidamente bactericida de las QF y a la capacidad de actuar sobre los factores de virulencia aun en concentraciones subinhibitorias, las hace aptas para tratamientos de breve duración, particularmente en pacientes pediátricos con infecciones severas, porque de esta manera se minimizarían los efectos colaterales descritos para este grupo etario.

**Resistencia a los antimicrobianos de especies de *Salmonella*,
Shigella, *Escherichia* y *Aeromonas* aisladas de niños diarreicos en
siete centros de Argentina**

Norma Binsztein, Ana María Picandet, Rodolfo Notario, Esther
Patrito, María Elena De Lesa, Ariel Depetris, Daniel Maurel,
Olga Nader, Marta Rivas, Maritzia Szefner, Marta Vergara.
Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS Carlos
Malbran, Buenos Aires.

Publicado en Rev. Latinoamer. Microbiol., 41(3):121-6, 1999.

Summary

The increasing levels of resistance of enteropathogenic bacteria against antimicrobial agents present geographic variations. We have analysed the antimicrobial susceptibility of isolates obtained from 4,364 children under 5 years of age with acute diarrhea, in 7 cities of Argentina. Diarrheagenic *E. coli* exhibited 74.5% of resistance against ampicillin, 64.2% against sulfamethoxazole-trimethoprim, and *Shigella* spp., 62% and 75.6% respectively. *Salmonella* sp. showed 35%, 14%, 41.8%, 65.4%, 14.5%, and 13.6% of resistance against ampicillin, chloramphenicol, sulfamethoxazole-trimethoprim, sulfadiazin, gentamycin, and fosfomycin respectively. These values are higher than the ones observed in developed countries. *Aeromonas* showed significantly lower resistance percentage. Important differences in our country were observed, consequently, local trials should be carried out in order to apply corrective measures.

Estudio de susceptibilidad a antibioticos β -lactamicos en *Aeromonas* spp. de origen clínico y alimentos

Fernando Benassi, Martha von Specht, Myriam García, Bibiana Martín, Amanda Pucciarelli, Marina Quiroga, Emilce Zubreski, Gabriel Gutkind. Fac. de Cs. Ex., Qcas. y Nat., UNaM. Fac. de Fcia. y Bqca., UBA, Bs. As.

Presentado en VIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Rafaela, Santa Fe, Argentina, 1999.

Introduccion

Los microorganismos del genero *Aeromonas* son agentes etiológicos de enfermedades en animales de sangre fría y en peces, así como han sido involucrados como causantes de brotes alimentarios.

El aumento de la resistencia a antimicrobianos en estos microorganismos, principalmente a β -lactámicos, genera un problema adicional ya que influye directamente en la terapia antimicrobiana de infecciones causadas por *Aeromonas* spp. Este incremento es atribuido a la presencia de β -lactamasas.

El propósito del presente trabajo consistió en relevar los patrones de susceptibilidad a β -lactámicos en *Aeromonas* spp. de origen clínico, de aguas superficiales y canales de pollos.

Materiales y metodos

Se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) por el método de dilución en agar, según normas e interpretación de resultados del NCCLS. Se utilizaron antibióticos de potencia (μg ó UI/mg) valorada. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Se ensayó la sensibilidad de las cepas a los siguientes antimicrobianos: ampicilina (Amn), ampicilina-sulbactama (Ams), cefalotina (Ctn), cefotaxima (Ctx), ceftriaxona (Cro), ceftazidima (Caz), cefepime (Fep), aztreonam (Azt) , imipenem (Imp).

Resultados

Para los estudios de susceptibilidad a antibióticos β-lactámicos, se seleccionaron al azar 62 cepas de *Aeromonas* spp. Los rangos de CIM (μg/ml) se indican en el siguiente cuadro:

ORIGEN	AMN	AMS	CTN	CTX	CAZ	CRO	FEP	IMP	AZT
HUMANAS	2048-32	128/64-8/4	512-1	8-0,078	4-0,5	1-0,015	0,03-0,004	1-0,06	4-0,015
AGUA	512- 64	128/64-16/8	256-2	2-0,03	2-0,03	0,5-0,03	0,06-0,007	ND*	0,125-0',015
POLLOS	128-64	256/128-8/4	256-1	0,06-<0,03	0,125-0,03	0,5-0,03	0,06-0,004	ND	0,015-0,004

Amn: aminopenicilinas, Ams: Aminopenicilina-sulbactama. Ctn: Cefalotina, Ctx: Cefotaxime, Caz: Ceftazidima, Cro: Ceftriaxona. Fep: Cefepime, Imp: Imipenem, Azt: Aztreonam. *No determinada.

Teniendo como parámetros los valores de CIM recomendados por el NCCLS que definen a una cepa como resistente, se registró la siguiente distribución porcentual en especies de *Aeromonas* spp. según su origen:

PORCENTAJE DE RESISTENCIA A SS-LACTAMICOS									
	AMN	AMS	CTN	CTX	CAZ	CRO	FEP	IMP	AZT
HUMANO	100	75.5	55.9	0	0	0	0	0	0
AMBIENTAL	100	62.5	62.5	0	0	0	0	ND*	0
ALIMENTARIO	100	70.0	30.0	0	0	0	0	ND	0

*No determinada.

Se calcularon los valores de CIM₉₀**, para Ctx, Cro, Caz, Fep y Azt, la distribución según origen se detalla en el cuadro:

ORIGEN	CTX	CAZ	CRO	FEP	IMP	AZT
Humanas	1	2	0,25	0,03	0,5	0,06
Agua	1	0,5	0,125	0,03	ND*	0,06
Pollos	0,03	0,03	0,06	0,03	ND	0,015

*No determinada (No fue probado en capas de agua ni de pollo).

** CIM90 Concentración inhibitoria mínima a la cual el 90 % de las cepas fueron inhibidas.

Discusión

Al analizar los resultados obtenidos en los ensayos de sensibilidad a antibióticos β -lactámicos se observó que, para aquellos β -lactámicos de amplia difusión en nuestro medio (aminopenicilinas, aminopenicilina-sulbactama y cefalotina) las cepas estudiadas, cualquiera sean sus orígenes, presentaron altos valores de CIM, lo que implica una elevada resistencia.

Todas las cepas fueron resistentes a aminopenicilinas, mostrando además altos porcentajes de resistencia a los inhibidores de β -lactamasas (en este estudio, sulbactama). Llama la atención que la resistencia a cefalotina sea mayor en cepas de agua que en humanas, pudiendo deberse este hecho a que al ser una cefalosporina inyectable su difusión en la comunidad sea menor. Para los restantes β -lactámicos estudiados, los bajos valores de CIM hallados muestran una elevada sensibilidad en todas las cepas, independientes de su origen.

En todos los casos, a excepción de cefotaxime, cefepime y aztreonam donde los valores fueron iguales, las cepas humanas presentaron una CIM₉₀ más elevada que las cepas de aguas. Estas últimas, a su vez mostraron una CIM₉₀ más elevada que las aisladas de pollos, a excepción de cefepime.

Los resultados muestran que la presión selectiva ejercida por los fármacos antimicrobianos de uso habitual, ha permitido la adaptación de los gérmenes a través de la aparición de la resistencia. Este aspecto debe ser considerado antes de iniciar una terapia con antibióticos β -lactámicos.

Perfil de resistencia (R) de cepas de *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP) en Posadas, Misiones

Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Marina Quiroga, Patricia Oviedo, Carlos DeLima, Margarita Laczeski, María Gabriela Cáceres, Rosanna Stefañuk, Marta Vergara. Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en IV Jornadas Internacionales de Enfermedades Transmisibles. Esperanza, Santa Fe, Argentina, 2000.

ECEP es una causa importante de diarrea, pudiendo producir cuadros clínicos severos, diarrea prolongada y brotes en recién nacidos. Ciertos serotipos de ECEP se asocian a la diarrea epidémica del recién nacido, con importante mortalidad. Las diarreas causadas por ECEP pueden necesitar, en algunas situaciones clínicas, del uso de antimicrobianos (AM).

Nuestro objetivo fue conocer el perfil de resistencia de dichas cepas y poder aportar con los datos de perfiles locales, a un uso racional de AM. Es oportuno recordar que en nuestro país, ECEP es frecuente en niños con diarrea y también en los asintomáticos.

Fueron estudiadas 64 cepas de ECEP, recuperadas de heces de niños cada 15 días, desde su nacimiento y durante los 20 primeros meses de vida. Algunas cepas recuperadas a los 30 días de vida, y por pertenecer los niños a un ambiente de necesidades básicas insatisfechas, resalta la sospecha de la elevada contaminación microbiológica del ambiente.

La susceptibilidad a los AM: Cefalotina (CEF), Ampicilina (AMN), Ampicilina-sulbactama (AMS), Cefotaxima (CTX), Trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), Gentamicina (GEN) y Fosfomicina (FOS), se realizó por el método de difusión con discos, según técnica de Kirby-Bauer, siguiendo Normas del NCCLS 1999, para su interpretación.

Observamos elevada R a AMN (65,6%), AMS (57,8%) y CEF (51,6%). La R observada en los restantes AM ensayados fue: TMS (53,1%), GEN (10,9%), CTX (12,5%) y FOS (3,1%),

Concluimos que:

- El uso indiscriminado de AM debe ser evitado.
- Es de gran utilidad el conocer los perfiles locales, por aportar a un uso racional de AM, en casos que, por la clínica y la duración del episodio diarreico, sea requerido para la resolución del mismo.
- Los perfiles locales de las cepas involucradas en diarreas por ECEP, y otros enteropatógenos, deben ser consultados a fin de disminuir estos índices de resistencia.

Perfil de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* diarrogénicos

Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak,
Patricia Oviedo, Carlos De Lima, Erika Lehman, Margarita
Laczeski, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, FCEQyN,
Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en IX Congreso Argentino de Microbiología, Buenos
Aires, Argentina, 2001.

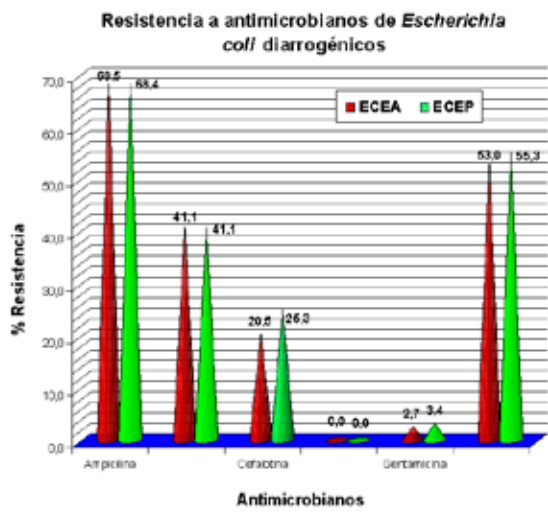
La flora fecal representa un potencial y constante reservorio de genes de la resistencia por intercambio de material genético a otros microorganismos, como los virulentos, incrementando la frecuencia de infecciones por bacterias resistentes, ya sea en las de la comunidad como en las hospitalarias. Con la finalidad de conocer la frecuencia de la colonización fecal de *E. coli* diarrogénicos (EcD) resistentes, desde el nacimiento de los niños y durante sus primeros 20 meses de vida, realizamos este trabajo. Pretendemos dar cuenta además, del impacto potencial de los hallazgos en niños muy pequeños, sanos, de la comunidad, a la hora de analizar riesgos asociados a la presión antibiótica y a la hora de necesitar de los patrones locales de susceptibilidad de estos microorganismos, (EcD): *E. coli* enteropatógeno (ECEP), y *E. coli* enteroagregativo (ECEA) que, con no poca frecuencia, ocasionan severas gastroenteritis en los niños.

Se determinó la susceptibilidad a ampicilina (AMN). Ampicilina-sulbactama (AMS), cefalotina (CEF), cefotaxima (AMC), gentamicina (GEN), Trimetoprimasulfametoxazol (TMS). La CIM fue realizada por el método de dilución en agar, y los controles de calidad y “breakpoints” utilizados para el análisis fueron los recomendados por el NCCLS.

149 cepas de ECEA y 114 cepas de ECEP fueron seleccionadas para este estudio. Los porcentajes de resistencia ® en ECEA y ECEP para AMN fueron: 68,5% y 68,4%; TMS 53% y 55,3%; CEF 20,5% y 25,3%; y GEN 2,7% y 3,4%, respectivamente, AMC no presentó ® en ninguna de las categorías estudiadas. AMS presentó idéntico porcentaje de ® para ambas categorías. La baja actividad de

AMN y TMS puede deberse al indiscriminado uso de estos agentes en la comunidad. Como era de esperar, GEN y AMC no presentaron valores importantes de ®.

El conocer los perfiles locales de susceptibilidad es indispensable ya que la ® de *E. coli* comensales, es un útil dispositivo que devela, como un indicador, la ® bacteriana en la comunidad, aportando a un uso racional de antimicrobianos.



Estudio de susceptibilidad a antibióticos β -lactámicos en *Aeromonas* spp. de origen clínico, animal y ambiental

Fernando Benassi, Marta Vergara, Marta von Spetch, Myriam García, Marina Quiroga, Amanda Pucciarelli, Emilce Zubreski, Margarita Laczeski, Bibiana Martín, Nélica Leardini, Gabriel Gutkind. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. División Bacteriología Especial. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS Dr. Carlos G. Malbran. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Publicado en Rev. Arg. Microbiol. 33(1):47-51, 2001.

Resumen

Se estudió la susceptibilidad a antibióticos β -lactámicos en *Aeromonas* spp. aisladas a partir de muestras de origen clínico, aguas de arroyos y de canales de pollos. La identificación a nivel de especie se realizó utilizando el esquema Aerokey II y el sistema comercial de paneles API 20E (Bio-Merieux). *A. hydrophila* resultó la especie mas frecuente en muestras de origen humano (44%) y en aguas de arroyos (41%), mientras que *A. caviae* predominó en canales de pollo (65%). Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) para antibióticos β -lactámicos a un total de 34 *Aeromonas* spp. de origen humano, 20 de canales evisceradas de pollos y 8 de aguas superficiales, utilizando el método de dilución en agar, según normas del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Todos los microorganismos ensayados resultaron sensibles a cefalosporinas de 3° generación, cefepime, imipenem y aztreonam y resistentes a ampicilina. A excepción de cefepime y aztreonam las cepas de origen humano presentaron una CIM₉₀ mas elevada que las de origen ambiental. La resistencia señalada resultaría favorecida por la constante presión selectiva, ya que dichos antibióticos son de gran difusión en nuestro medio.

ACCIÓN DE ANTIMICROBIANOS
SOBRE FACTORES DE VIRULENCIA

Rifampin activity against virulence factors of *Aeromonas* spp. from children with and without diarrhea

Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Liliana Lubaczewski, Alicia Farinati, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Universidad Católica Argentina.

Presentado en 1st World Congress of Pediatric Infectious Diseases, Acapulco, México, 1996.

Virulence factors in bacteria may be encoded on chromosomal DNA, bacteriophage DNA, plasmids or transposons in either plasmids or bacterial chromosome.

Several bacterial toxins are: enzymes and the toxic effect of these bacterial enzymes on the host is integral to the pathogenesis of the bacterial infections. The hemolysins are recognized virulence factors of different bacteria and can be cytotoxic. Almost all isolates of *A. veronii* var. *sobria* and *A. hydrophila* are enterotoxigenic and beta hemolytic but the plasmid analysis of selected strains does not correlate with these properties. At the same time, the influence on inducing release of leukotriene (LTB₄ and LTC₄) from human granulocytes was demonstrated. These data suggest a potent role for *Aeromonas*'s hemolysins as virulence factors in inducing the release of inflammatory mediators. The capacity to eliminate plasmid or to alterate the chromosomal DNA by some antimicrobial agents (AM): (quinolones, rifampin –RFP-, novobiocin) at subinhibitory concentrations have been demonstrated. In some areas of our country *Aeromonas* spp are increasingly associated with diarrheal diseases in adults and children and even have been related with hemolytic-uremic syndrome. AIM: to study the influence of RFP against hemolysins of 24 clinical isolates of hemolytic *Aeromonas* spp from feces of 15 children (63%) with diarrhea (D) and 9 (37%) from asymptomatic cases (ND). We study 8 isolates as reference strains: 7 hemolysins producers (HP): 3 *A. hydrophila*, 2 *A. jandaei*, 1 *A. veronii veronii*, 1 *A. veronii sobria* and 1 *A. caviae* non H-producer (NHP). Previously, the MIC of RFP against these strains was performed and their inhibitory activity with 1/2 and 1/4 MIC of RFP were

used as screening and the hemolysin activity was tituled by quantitative method (serial tube dilutions). We can observe the diameter reduction of hemolytic halo in all isolates (media = 3 mm, range 1 - 8 mm) incubated with 1/4 MIC. Among the 24 isolates, 22 (15 and 7 from D and ND respectively) displaying more than 1/16 of hemolytic activity, we can prove the diminution in the title of 96,5% and 86,2% of isolates incubated with 1/2 MIC (media = 3,5 dil., range 0 - 7) and 1/4 MIC (media = 2,7 dil., range 0 - 7) respectively. We emphasize the high hemolytic activity among D isolates from children and the RFP inhibitions of that sub-MIC concentrations, mainly 1/2 MIC. Despite the importance of screening method, it is essential to perform the quantitative one for allowing a determination more reliable. Further studies are necessary to establish the interaction of AM with virulence factors and their therapeutic applications.

Acción subinhibitoria de antimicrobianos frente a factores de virulencia bacterianos

Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Liliana Lubaczewski, Alicia Farinati, Marta Vergara. Universidad Nacional de Misiones-Universidad Católica Argentina.

Publicado en *Pediatría Activa*, Volume 1, Número 1, pp.1, 1997.

Los factores de virulencia en las bacterias pueden ser codificados por el ADN cromosómico, plasmídico o bien en transposones insertos en los plásmidos o el cromosoma bacteriano. Muchos de ellos son toxinas o enzimas que contribuyen en la patogénesis de las infecciones que desencadenan las bacterias que los poseen. Las hemolisinas son reconocidos factores de virulencia de diferentes bacterias y pueden ser citotóxicas además de actuar sobre los glóbulos rojos. Casi la totalidad de los aislamientos de *Aeromonas veronii* variedad *sobria* y *Aeromonas hydrophila* son enterotoxigénicas y betahemolíticas, pero el análisis de plásmidos de cepas seleccionadas no se correlacionan con estas propiedades. Al mismo tiempo se demostró la influencia sobre la inducción de liberación de leucotrienos (LTB4 y LTC4) a partir de granulocitos humanos. Estos datos sugieren una importante función de las hemolisinas de *Aeromonas* como factores de virulencia, al inducir la liberación de mediadores inflamatorios. Al mismo tiempo se ha demostrado la capacidad de ciertos agentes antimicrobianos (AM) como las quinolonas, rifampicina (RFP), novobiocina, de eliminar plásmidos o de alterar el cromosoma bacteriano aun en concentraciones subinhibitorias, despojando a la bacteria de su capacidad de virulencia, pero sin producir su muerte y quedando de esta manera a disposición de los mecanismos naturales de defensa.

En algunas áreas de nuestro país, *Aeromonas* spp. están asociadas a episodios de diarrea, tanto en adultos como en niños, e inclusive se las ha relacionado con el síndrome urémico hemolítico. Por todas estas características, decidimos estudiar la influencia de la RFP en la producción de hemolisinas de 24 aislamientos de *Aeromonas* spp. hemolíticas recuperadas de la materia fecal de 15 niños con dia-

rrea (63%) y de 9 asintomáticos (37%). Se estudiaron además 8 cepas controles: 7 productoras de hemolisinas (3 *A. hydrophila*, 2 *A. jandaei*, *A. veronii* var. *veronii*, *A. veronii* var. *sobria*) y 1 *A. caviae* no productora de hemolisina. Previamente se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de la RFP frente a dichos aislamientos y se utilizó $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{2}$ de la CIM para observar si se producían o no modificaciones de la actividad hemolítica. A tal efecto se tituló la misma mediante métodos cuali y cuantitativos (halos de hemólisis y diluciones seriadas en tubos), comprobándose que los halos de hemólisis disminuían e inclusive desaparecían en mas del 95% de las cepas estudiadas como así también los títulos de hemolisina. En este ultimo caso la reducción fue de 3.5 diluciones (+/- 7) en el 96.5% y en el 86.2% cuando las cepas se incubaron previamente con $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{2}$ de la CIM de RFP. Destacamos en este estudio la gran actividad hemolítica de los aislamientos de *Aeromonas spp.* de los casos de diarreas y de la reducción de la misma utilizando concentraciones subinhibitorias de RFP, particularmente $\frac{1}{2}$ CIM. Es necesario y constituye un verdadero desafío, estudiar la interacción de los AM con los factores de virulencia bacterianos, ya que muchos de ellos actuarían favorablemente en concentraciones que estén por debajo de las habituales. De este modo hay AM como las quinolonas fluoradas, cuyo uso no está aun autorizado en pediatría; que podrían ser utilizados por períodos breves, en dosis menores o combinados en casos de diarreas severas que requieran tratamiento antimicrobiano, como ocurre en casos de *Shigella spp.*

Primera experiencia en Misiones de acción de concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacina © y rifampicina ® en *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)

Marta Vergara, Patricia Oviedo, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Alicia Farinati. Cátedra de Bacteriología de la Universidad Nacional de Misiones. Universidad Católica Argentina.

Presentado en XIV Congreso Latinoamericano de Microbiología, II Congreso de Microbiología del Mercosur, II Congreso Paraguayo de Microbiología, Asunción, Paraguay, 1998.

Algunos antimicrobianos y otras moléculas han demostrado capacidad para eliminar plásmidos que codifican virulencia, entre otros factores, pudiendo alterar el ADN, cromosómico, inhibiendo la transmisión del mensaje genético necesario para la expresión de los mismos. Mecanismo éste, investigado para concentraciones subinhibitorias de antimicrobianos, que al dejar la bacteria viable, pierde esta los efectos indeseables para el huésped. Investigamos dicho mecanismo sobre la expresión de: pilis (P) y enterotoxina termolábil (LT) de 10 cepas de ECET las que se incubaron con agitación durante 12 y 24 horas en concentraciones subinhibitorias ($\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$ de la CIM) de © y ®.

Para la demostración de la producción de (P) y (LT) se utilizó Salting out y ELISA, respectivamente.

Metodología: Se determinó la CIM de cada cepa a fin de establecer las concentraciones subinhibitorias. Luego de la acción de las mismas sobre los microorganismos, se comprobó su viabilidad y la expresión de (P) y (LT).

Resultados: Expresión de Hidrofobicidad de superficie: se observó disminución de la misma, en todas las cepas; concentraciones de CIM y tiempos estudiados, siendo ® en concentración de $\frac{1}{2}$ de la CIM y durante 12 hrs. de acción, la que mostró una disminución más uniforme y marcada y © una disminución más intensa con respecto a ®, no registrándose diferencias en las concentraciones ni en los tiempos de incubación usados. Expresión de la producción de (LT): se observó una disminución de la lectura de absorbancia del ELISA, en todas las cepas,

concentraciones de CIM y tiempos de acción usados. ® y © en $\frac{1}{2}$ de CIM y a las 14 hrs de acción, produjeron la disminución más marcada en la lectura de absorbancia del ELISA, con leve aumento, sin alcanzar el nivel de las cepas no tratadas, para la concentración $\frac{1}{2}$, durante 12 hrs. El borramiento de la codificación genética de estos factores de virulencia estudiados aquí se encuentra en estudio.

Conclusión; concentraciones subinhibitorias de ® y © producen una disminución en la expresión de (P) y (LT) necesidad de continuar estos estudios, ya que este mecanismo puede tener implicancia en la terapéutica antiinfecciosa, en especial con drogas como quinolonas, aun no especificadas para la diarrea aguda infecciosa infantil, las que podrían ser administradas en concentraciones subinhibitorias, disminuyendo el riesgo de uso en dosis terapéuticas.

Estudio preliminar de la acción de antimicrobianos en concentraciones subinhibitorias sobre factores de virulencia.

Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Patricia Oviedo, Marina Quiroga, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en III Jornadas Internacionales de Enfermedades Transmisibles. Puerto Iguazú, Misiones, Argentina, 1999.

Existen acumuladas evidencias de que concentraciones sub-inhedorias (sub-CIM) de algunos antimicrobianos provocan efectos sobre la fisiología bacteriana, alterando algunos factores o funciones asociadas a la patogenicidad.

Objetivos

Conocer si concentraciones sub-CIM de los antimicrobianos rifampicina (Rfa) y ciprofloxacina (Cip) provocan alteraciones en la capacidad invasiva de cepas de *Shigella* spp.

Metodología

Se estudiaron 5 cepas de *Shigella* spp. aisladas de heces de niños menores de 5 años con diarrea aguda. Las cepas se caracterizaron bioquímicamente según metodología estándar y serológicamente con antisueros provistos por el ANLIS "Dr. Carlos Malbran". La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se determinó por el método de dilución en medio sólido, según normas del NCCLS a partir de la cual se fijó el $\frac{1}{2}$ y el $\frac{1}{4}$ de dicha CIM. La capacidad invasiva de las cepas seleccionadas se determinó por el test de producción de queratoconjuntivitis en ojo de conejo y/o cobayo (Test de Sereny). Posteriormente, se las sometió a concentraciones sub-CIM equivalentes a $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$ de la CIM según técnicas y se ensayó nuevamente dicho test.

Resultados

Las especies involucradas fueron: 4 cepas de *Shigella flexneri* y 1 cepa de *Shigella sonnei*. De las cinco cepas enfrentadas a concentraciones sub-CIM de Rfa, en tres se observó la pérdida de la capacidad invasiva (test de Sereny negativo) para ambas concentraciones. Para Cip, cuatro de las cepas ensayadas perdieron su capacidad de invadir en concentración equivalente a $\frac{1}{2}$ CIM, de estas solo dos también manifestaron dicha pérdida con $\frac{1}{4}$ de CIM.

Conclusiones

Los resultados preliminares obtenidos muestran que concentraciones sub-inhedoras de Rfa y Cip podrían provocar la pérdida de la invasividad en cepas de *Shigella* spp. Sin embargo, el escaso número de cepas estudiadas obliga a ampliar este trabajo antes de presentar conclusiones.



Test de Sereny

NUESTRA EXPERIENCIA

10 cepas estudiadas

5 positivas (50%)

5 negativas (50%)

4 cepas (80%)	3 D
1 cepa (20%)	5 D

El tiempo de curación de los animales superó los 15 días.

Effects of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin on enterotoxigenic *Escherichia coli* virulence factors

Patricia Oviedo, Marina Quiroga, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina.

Publicado en J. Chemother., 12(6):487-90, 2000.

Summary

Eight enterotoxigenic *Escherichia coli* were studied with the aim of investigating the effect of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin on their adherence properties and on the expression of thermolabile enterotoxin. Our data showed that the hydrophobicity on the bacterial cell surface, the hemagglutination properties, and thermolabile enterotoxin production were considerably reduced after treatment with subinhibitory concentrations of ciprofloxacin, suggesting that ciprofloxacin may be capable of decreasing adhesiveness and expression of the thermolabile toxin of enterotoxigenic *Escherichia coli*. In conclusion, our study supports the concept that subinhibitory concentrations of ciprofloxacin interfere with the process of host-parasite interactions such as adherence and toxin production

Rifampicin sub-inhibitory concentrations reduce the expression of haemolysin in *Aeromonas* spp.

Marina Quiroga, Alicia Farinati, Eduardo Pegels, Liliana Lubascewski, Marta Vergara. Universidad Nacional de Misiones- Universidad Católica Argentina.

Publicado en Int. J. Antimicrob. Agents [letter], 15(3):243-244, 2000.

Summary

Our study was undertaken to determine if subinhibitory concentrations of rifampicin, that blocks RNA synthesis initiation, might reduce the haemolysin activity of *Aeromonas* strains. Twenty-four haemolytic *Aeromonas* spp. were studied. Haemolysin assays were performed as described by Kirov. The haemolysin titre was recorded as the last dilution showing 100% haemolysis of the erythrocytes. The effect of sub-MICs on the haemolytic activity was only studied in strains with a haemolysin titre $\geq 1/16$. A haemolysin titer $\geq 1/16$ was observed in 20/24 (83.3%) of the untreated isolates. This titre was reduced in 15/20 (75%) and 14/20 (70%) of the isolates with $1/2 \times$ MIC and $1/4 \times$ MIC of rifampicin, respectively.

***Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP): influencia de concentraciones subinhibitorias (sub-CIM) de Ciprofloxacina (CIP) sobre la adherencia-Resultados Preliminares**

Eduardo Pegels, Graciela Jordá, Elizabeth Husulak, Patricia Oviedo, Marina Quiroga, Marta Vergara. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Posadas, Misiones, Argentina.

Presentado en VII Congresso Catarinense de Farmacêuticos e Bioquímicos. Florianópolis, Brasil, 2000.

Objetivos

Se ha observado que en ECEP la expresión del “bundle-forming pilus”, codificado por el gen *bfp*, se correlaciona con su habilidad de exhibir un fenotipo de adherencia localizada (LA), mutaciones en dicho gen fracasan en producir este patrón “in vitro”. Ha sido informado que quinolonas fluoradas a concentraciones sub-CIM podrían inhibir la adherencia induciendo la pérdida de fimbrias de superficie modificando la AL. Con el objeto de investigar tales modificaciones iniciamos este estudio.

Métodos

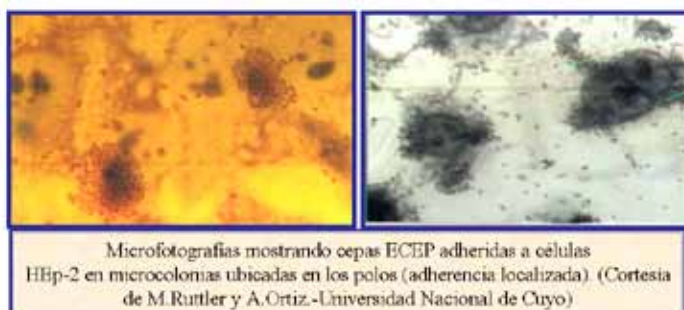
Dos cepas de ECEP, identificadas por sondas moleculares, se sometieron (24 hs) a concentraciones sub-CIM (1/2 CIM y 1/4 CIM) de CIP. La CIM a CIP de cada cepa se determinó por el método de dilución según recomendaciones del NCCLS. Se estudiaron 3 juegos de cada cepa (sin CIP, con 1/2 CIM y 1/4 CIM de CIP). 100 µl de cada juego (desarrollo de 24 hs) se transfirieron a una monocapa de células HEP-2 desarrolladas sobre cubre-objetos según describe Cravioto. Luego de 3 hs de incubación (35°C) en medio MEM con 1% de D-manosa, las células se colorearon con Giemsa 7% y la búsqueda de AL se realizó con objetivo de inmersión en microscopio óptico.

Resultados

En ninguna de las ECEP estudiadas se observó la pérdida de la capacidad de adherirse en forma localizada a las células HEp-2.

Conclusión

Hasta el momento no demostramos el efecto buscado sobre AL con las concentraciones, tiempo de exposición y antimicrobiano empleados. Mayores estudios y número de cepas son necesarios a fin de obtener resultados más concluyentes.



Enteropatógenos bacterianos: Acción de rifampicina en concentraciones sub-letales sobre algunos factores asociados a la virulencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico

Elizabeth Husulak, Patricia Oviedo, Eduardo Pegels, Marina Quiroga, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Ciencias, Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

Publicado en Revista de Ciencia y Tecnología, Año 4, N°4a: 12-16, 2001.

Resumen

El objeto de este estudio fue el de determinar la acción de rifampicina en concentraciones subletales sobre algunos factores de virulencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico. Para ello, estudiamos dicha acción sobre la adherencia por las técnicas de “Salting out” y hemaglutinación manosa-resistente y sobre la expresión de la enterotoxina termolábil (LT) por GM1- ELISA. Las técnicas se aplicaron a las cepas antes y después de ser sometidas a concentraciones subinhibitorias (1/2 y 1/4 CIM) de rifampicina.

Nuestros datos muestran que concentraciones subinhibitorias de rifampicina serían capaces de reducir la adhesividad y la expresión de toxina LT en cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénico.

Acción de antimicrobianos en concentraciones sub-inhedorias sobre la producción de hemolisinas de *Aeromonas* spp.

Marina Quiroga, Elizabeth Husulak, Eduardo Pegels, Patricia Oviedo, Rosanna Stefañuk, María Gabriela Cáceres, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología. FCEQyN. Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en IX Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires, Argentina, 2001.

Existen evidencias que concentraciones sub-inhedorias (sub-CIM) de antimicrobianos, interfieren en diversos procesos bacterianos tales como la adherencia y producción de toxinas.

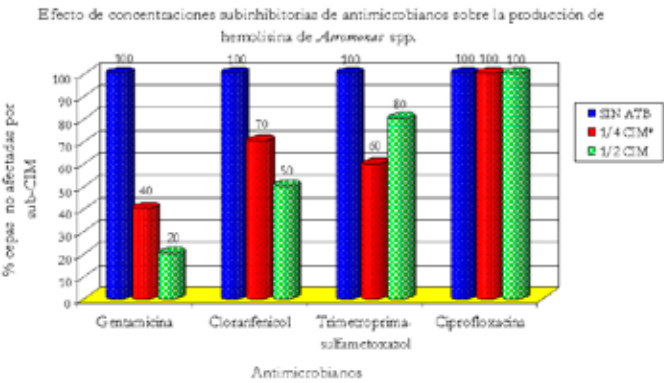
Actualmente, *Aeromonas* spp. son reconocidas como patógenos emergentes capaces de producir una gran variedad de productos extracelulares biológicamente activos que incluyen, entre otros, toxinas con propiedades hemolíticas, citotóxicas y enterotóxicas.

Con el objeto de determinar si concentraciones sub-CIM de antimicrobianos de uso clínico en infecciones causadas por estas cepas y que afectan, directa o indirectamente la síntesis de proteínas, podían reducir la actividad hemolítica (AH) estudiamos 10 cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de diversas muestras clínicas (esputo, heridas, heces).

Fueron estudiadas 4 *A. hydrophila*, 3 *A. veronii* var. *sobria*, 1 *A. caviae*, 1 *A. schubertii* y 1 *A. veronii* var. *veronii*. La concentración inhibitoria mínima (CIM) a gentamicina (GEN), Trimetoprima-sulfametoxazol (TMS), Cloranfenicol (CMP) y ciprofloxacina (CIP) se determinó por el método de dilución en agar según recomendaciones del NCCLS. La cuantificación de la AH se realizó según Quiroga y col. (Int. J. Antimicrob. Agents, 2000, 15:243-44) en sobrenadantes libres de células provenientes de las cepas cultivadas en caldo Mueller Hinton sin antibióticos y en presencia de $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$ de CIM de cada uno de los antibióticos mencionados. El título de hemolisina fue registrado como la última dilución don-

de se observaba 100% de hemólisis. La reducción de un factor de dilución no fue considerada significativa. Observamos reducción de la AH en 80%, 50% y 20% de las cepas sometidas a 1/2 CIM de GEN, CMP y TMS, respectivamente. Con 1/4 CIM de GEN, CMP y TMS la reducción ocurrió en 60%, 30% y 40% de las cepas, respectivamente. Con ninguna de las dos concentraciones sub-CIM de CIP observamos reducción de la AH. En una de las cepas, la expresión de hemolisina se incremento en tres diluciones frente a concentraciones sub-CIM de CIP.

Los resultados obtenidos indicarían que algunos antimicrobianos en concentraciones sub-CIM afectarían significativamente la AH en *Aeromonas* spp., reduciéndola; afectación que involucraría a la citotoxicidad y por ende a algunos de los factores asociados a la virulencia.



***Escherichia coli* enteropatógeno: influencia de concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacina: ensayo de adherencia a HEP-2 y estudio molecular**

Eduardo Pegels, María Elena Ruttler, Graciela Jordá, Alba Ortiz, Elizabeth Husulak, Patricia Oviedo, Marina Quiroga, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, FCEQyN, Universidad Nacional de Misiones. Cátedra de Química Biológica. FCM. Universidad Nacional de Cuyo.

Presentado en IX Congreso Argentino de Microbiología, Buenos Aires, Argentina, 2001.

Entre los agentes causantes de diarrea se destaca *Escherichia coli* enteropatógeno (EPEC), caracterizado por su habilidad de adherirse a monocapas de células en cultivo con un fenotipo característico de adherencia localizada (AL). Existen evidencias epidemiológicas que involucran a este agente como causante de diarrea en niños y también en adultos. El grupo es heterogéneo, comprendiendo diversos serotipos que poseen una variedad de factores de virulencia putativos involucrados en la adhesión. El diagnóstico de ECEP basado en la serotipificación es insuficiente ya que esta no identifica las cepas que expresan el fenotipo AL en células HEP-2. La AL esta asociada con una fimbria llamada BFP (bundle-forming pili). La producción de BFP esta dirigida por el operón *bfp*, dentro del plásmido EAF. Ha sido informado que quinolonas fluoradas a concentraciones subinhibitorias (sub-CIM) podrían alterar la adherencia al eliminar plásmidos o inhibir su expresión.

Con el objeto de investigar tales modificaciones iniciamos este estudio.

La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) a CIP de dos cepas de ECEP, identificadas por sondas moleculares, se determinó por el método de dilución según recomendaciones del NCCLS. Posteriormente, ambas cepas se sometieron (24 hs) a concentraciones sub-CIM de ciprofloxacina (CIP).

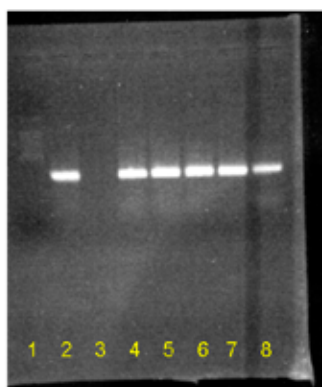
Se estudiaron 3 juegos de cada cepa (sin CIP, con 1/2 y con 1/4 CIM de CIP). El ensayo de adherencia se realizó según metodología descripta por Ortiz (Rev. Arg. Microbiol, 1998, 30:13-19). La investigación de la presencia del *bfp* se realizó por

la técnica de PCR utilizando un set de primers (cebadores) que amplifican una región de 324 pares de bases. En cada ensayo se utilizaron cepas patrones como controles positivos y negativos.

Los resultados mostraron que, aun en presencia de sub-CIM de CIP, las cepas conservaban el gen *bfp* y su expresión, al adherirse en forma localizada.

Estos datos preliminares podrían indicar la ausencia de un efecto inhibitorio de CIP en concentraciones subinhibitorias sobre la adherencia de ECEP en las concentraciones y tiempo de exposición empleados.

Detección del gen *bfp* en cepas ECEP sometidas y no sometidas a concentraciones sub-inhibitorias de ciprofloxacina



Lineas:

- 1: ladder
- 2: *bfp* (+)
- 3: *bfp* (-),
- 4: cepa 1 sin ATB
- 5: cepa 1 1/2 CIM
- 6: cepa 1 1/4 CIM
- 7: cepa 1 1/8 CIM
- 8: cepa 1 1/16 CIM

**Efecto de concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacina (Cip)
en la expresión de la movilidad de *Escherichia coli* enteropatógenas
(ECEP)**

Patricia Oviedo, Marina Quiroga, Margarita Laczeski, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Carlos De Lima, Marta Vergara.
FCEQyN. Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en IX Jornadas Argentinas de Microbiología,
Córdoba, Argentina, 2002.

La movilidad es un mecanismo del que disponen algunos microorganismos y que lo utilizan como un elemento coadyuvante, en aquellos que lo poseen, en el proceso del daño al huésped. Existen evidencias que demuestran que cepas bacterianas sometidas a concentraciones subletales de antimicrobianos (ATB), si bien no pierden la viabilidad, han reducido su virulencia en forma significativa. Esta reducción puede deberse a la capacidad que poseen ATB, como algunas quinolonas, que son capaces de alterar el ADN (por inhibición de la ADN-girasa) conduciendo a la disminución de la virulencia, por alteración de la síntesis de proteínas y la expresión fenotípica, aun sin eliminar al microorganismo. Con el objeto de investigar si tales modificaciones ocurren con la movilidad, en cepas movilidad positiva, realizamos el presente estudio.

La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de Cip de siete cepas de ECEP, (identificadas por sondas moleculares), se determinó por el método de dilución según recomendaciones del NCCLS. Posteriormente, las cepas se sometieron (24 hs) a concentraciones sub-CIM de Cip. Se estudiaron 3 juegos de cada cepa (sin Cip, con $\frac{1}{2}$ y con $\frac{1}{4}$ CIM de Cip). El ensayo de Movilidad se realizó según metodología descrita por Braga (Braga PC. Antimicrob. Agents Chemother 1999, 43:1013-19) para cepas enfrentadas con $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$ CIM a Cip utilizándose controles sin ATB.

Observamos reducción de la expresión de la movilidad en el total de las cepas estudiadas en valores absolutos, si bien al realizar el tratamiento estadístico no se observaron diferencias significativas.

Concluimos que, en sitios donde no se lograría la concentración necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano, ya sea por farmacocinética y/o razones de toxicidad, la disminución de la expresión de algunos de los factores asociados a la virulencia bacteriana, sería beneficiosa, con lo que se aportaría a la resolución de procesos infecciosos.

**Acción de concentraciones sub-inhedorias de ciprofloxacina (CIP)
sobre cepas de *Escherichia coli* enteropatógeno- Estudio molecular**

Eduardo Pegels, María Elena Ruttler, Patricia Oviedo, Marina Quiroga, Elizabeth Husulak, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, FCEQyN, Universidad Nacional de Misiones. Cátedra de Química Biológica. FCM. Universidad Nacional de Cuyo.

Presentado en 7º Congreso Argentino de Bioquímica CUBRA VII, Posadas, Misiones, Argentina, 2003.

Ha sido informado que quinolonas fluoradas y otros antimicrobianos en concentraciones subinhibitorias podrían modificar la acción de cierto factores de virulencia bacteriana como fimbrias, proteínas de membrana y otros, alterando su expresión o su producción.

Entre agentes causantes de diarrea se destaca *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP), con habilidad para adherirse a monocapas de células en cultivo con un patrón localizado, asociado a una fimbria llamada BFP (bundle-forming pili), dirigida por el operón *bfp*, dentro del plásmido EAF.

Con el objeto de investigar la acción de CIP sobre el gen *bfp* iniciamos el estudio.

Se estudiaron nueve cepas de ECEP, identificadas por sondas moleculares. Se estudio cada cepa sin CIP con 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de la CIM. Cultivadas en caldo tripteaína soja, 24 hs. a 35°C, luego lavadas con PBS (3 veces) y centrifugadas, el concentrado se utilizó como templado previo tratamiento con Tritón 1 % a Baño María hirviente 10 min. y centrifugación a 10000 rpm.

La presencia del gen *bfp* se investigó por Técnica de PCR utilizando un set de primers (cebadores) que amplifican una región de 324 pares de bases del gen *bfp*: Esquema de ciclos: 1 de 2 min. y 30 de 1 min. a 94°C, 1 de 2 min. a 56°C, 1 de 1 min. a 72°C y 1 de 3 min. a 72°C.

Condiciones de Reacción: Buffer 10 x 10 µl, MgCl₂ 25mM 4 µl, dNTP 10mM 2.5 µl, Taq Polimerasa 5U/µl 0.5µl, Primer START 50 µM 1 µl, Primer STOP 50 µM 1 µl, H₂O 71µl, Templado 10 µl.

Control positivo: cepa patrón *E. coli* 2348/69 y control negativo: *E. coli* HS.

Los amplificados se separaron por electroforesis en gel de agarosa y se identificaron por comparación con un marcador de peso molecular, visualizados por transiluminación UV.

Resultados

En concentración de 1/2 de CIM disminuye la detección de *bfp* en un 22% (2/9), a 1/4 de CIM el 11 % (1/9), a 1/8 de la CIM el 22% (2/9) ya 1/16 el 11% (1/9).

Conclusiones

La disminución en la detección del gen *bfp* en las condiciones de nuestro estudio, no fue de magnitud tal, que nos permitiese especular sobre la alteración de este importante factor de virulencia involucrado en la adhesión.

Detección enzimática de la acción de concentraciones sub-inhedoras de ciprofloxacina sobre la adhesión de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) a células HEp-2

Patricia Oviedo, Eduardo Pegels, Ariel Careaga, Elizabeth Husulak, Marina Quiroga, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, FCEQyN, Universidad Nacional de Misiones.

Presentado en XVII Congreso Latinoamericano de Microbiología. X Congreso Argentino de Microbiología. Buenos Aires, Argentina, 2004.

La adherencia es considerada el primer y esencial paso en la colonización de una bacteria a la superficie mucosa del huésped. Las cepas de ECEP son capaces de adherirse a cultivos celulares (HEp-2) en un patrón de adherencia localizada. Muchos antimicrobianos en concentraciones sub-inhedoras (sub-CIM) modificarían, alterando o inhibiendo, la expresión de algunos factores de virulencia. Minami y colaboradores han propuesto un método enzimático para evaluar la capacidad de adhesión de ECEP: la producción de la enzima β -galactosidasa (β -GAL), enzima hidrolítica encargada del clivaje de lactosa, y capaz de hidrolizar el compuesto orto-nitro-fenilgalactósido (ONPG), resultando en la generación de un cromógeno, cuya intensidad puede ser medida por espectrofotometría.

Con el objetivo de estudiar el efecto de concentraciones sub-CIM (1/4 y 1/2 de la CIM) de ciprofloxacina (CIP), sobre la capacidad de adherirse de cepas ECEP, cuantificando la producción de β -GAL para evaluar dicho efecto, se estudiaron nueve cepas ECEP las que fueron sembradas en caldo tripteína-soja sin antibiótico y con concentraciones sub-CIM de CIP (1/2 y al 1/4 de la CIM de cada cepa), conteniendo 0,2 mM de isopropil-tio- β -D-galactósido (IPTG), inductor de la producción de β -GAL, durante 15 hs a 37°C, en agitación. Las células HEp-2 fueron cultivadas en medio mínimo Eagle conteniendo suero fetal bovino (5%), penicilina (100 U/ml) y estreptomycin (100 μ g/ml) en placas de 96 pocillos fondo plano. Formada la monocapa, se lavaron 3 veces con PBS y se agregaron 20 μ l del cultivo bacteriano. Luego de una incubación de 30 minutos a 37°C, se realizaron tres nuevos lavados con PBS a fin de remover las bacterias no adheridas y realizar la detección de la actividad enzimática. Para ello, en cada pocillo se agregó

80 µl del buffer de ensayo (0,1 M fosfato de sodio pH 7,0; 1 mm MgSO₄ y 0,1M 2-mercaptoetanol) saturado con tolueno. Las placas fueron incubadas 10 minutos a 30°C para romper la barrera de permeabilidad de las células bacterianas. Luego se agregaron 8 µl del buffer de ensayo conteniendo 4 mg/ml de ONPG, ajustando el volumen final a 210 µl con el buffer de ensayo. La absorbancia fue leída a 405 nm luego de una incubación a 30°C durante 2 a 4 horas. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Por un modelo estadístico de análisis de varianza, se encontró evidencia altamente significativa de diferencia en los resultados entre los grupos seleccionados para el ensayo, observándose una disminución de la actividad enzimática, e indirectamente una disminución en la capacidad de adherirse, en las cepas enfrentadas a concentraciones sub-CIM respecto a las que no fueran sometidas a la acción de CIP.

Estos resultados permitirían avalar estadísticamente la hipótesis de la existencia de una modificación en la adherencia de ECEP a células HEp-2, provocado por concentraciones sub-CIM del fármaco ciprofloxacina.

***Escherichia coli* enteropatógena: influencia de concentraciones sub-inhedorias de ciprofloxacina sobre factores asociados a la virulencia**

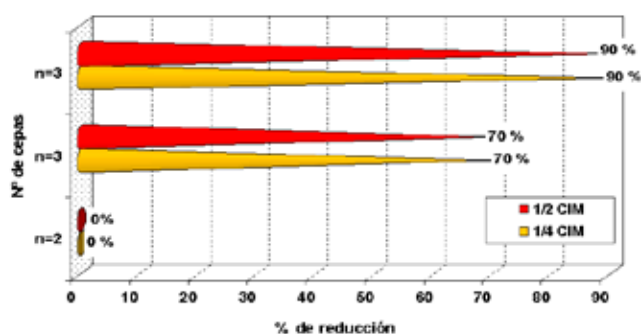
Marina Quiroga, Patricia Oviedo, Eduardo Pegels, Elizabeth Husulak, Graciela Jordá, Alba Ortiz, María Elena Ruttler, Marta Vergara. Cátedra de Bacteriología, FCEQyN, Universidad Nacional de Misiones. Cátedra de Química Biológica. FCM. Universidad Nacional de Cuyo.

Publicado en Revista de Ciencia y Tecnología Año 7, Número 7a., pp: 28-36, 2005.

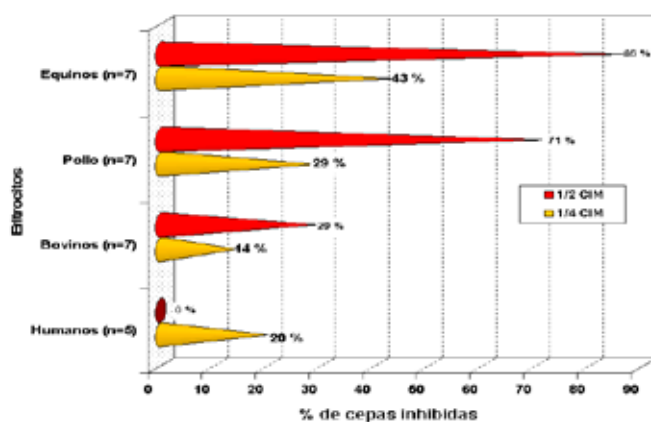
Resumen

En este estudio, investigamos la influencia de concentraciones subinhibitorias de ciprofloxacina sobre factores de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógeno (ECEP) como la movilidad, adherencia, producción de hemolisinas y la interacción con algunos mecanismos de defensa del huésped (fagocitosis). La adherencia se investigó sobre el gen *bfp*. La detección de *bfp* disminuyó en 22% de las cepas con $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{8}$ de CIM, y en 11% de las cepas con $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{16}$ de CIM. No observamos diferencias significativas en la producción de hemolisinas, reducción de la movilidad o de la fagocitosis en ninguna de las cepas ensayadas. Dados estos resultados, sería importante continuar con este tipo de estudios a fin de optimizar esquemas terapéuticos simples para el tratamiento en las infecciones no complicadas, disminuyendo las reacciones adversas que puedan algunas drogas ocasionar en el huésped.

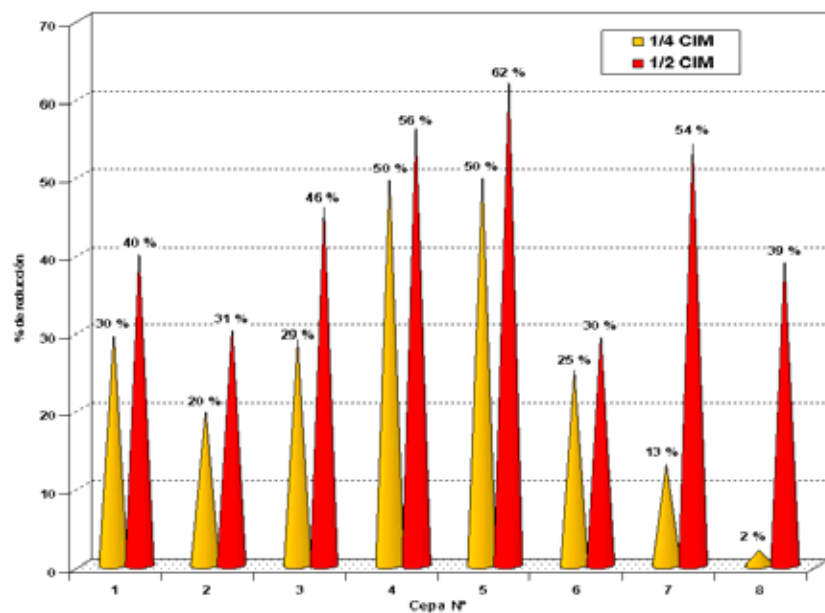
Porcentaje de reducción de la hidrofobicidad ("Salting out") de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénico sometidas a concentraciones subinhibitorias de rifampicina



Inhibición de la hemaglutinación de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénico. Porcentaje de cepas inhibidas luego de la exposición a concentraciones subinhibitorias de rifampicina.



Acción de concentraciones subinhibitorias de rifampicina sobre la producción de toxina LT en cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénico



Índice de Autores

A

Amer, Lidia 47, 66
Ayala, L. 112, 114, 135, 160

B

Basanta, Gustavo 105, 111
Basnec, Sandra N. 55
Benassi, Fernando 72, 90, 176, 183
Bendersky, Silvia 72
Binsztein, Norma 49, 51, 53, 77, 82,
101, 103, 105, 107, 111, 112,
114, 122, 127, 129, 131, 134,
135, 137, 138, 141, 143, 153,
175
Bodino, José 165
Borda, Noemí 160
Brítez, Andrés 69
Brito, Liliana 52
Bruno, Susana 93

C

Cacace, M. L. 160
Cáceres, María Gabriela 93, 179, 201
Caffer, María Inés 57, 64, 66
Canna, Fernando 95
Careaga, Ariel 209
Centeno, Jorge 52, 66, 73
Chade, Miriam 52, 60, 77
Chinen, Isabel 112, 135, 137, 143, 160
Cinto, Román 107, 111
Claramount, Raúl 129, 134

D

De Lesa, María Elena 175
De Lima, Carlos 93, 179, 181, 205
Depetris, Ariel 49, 51, 53, 55, 77, 153,
175
Deschutter, Jorge 47, 52, 67, 129, 134

E

Eiguer, Teresa 49, 51, 53, 57, 60, 64,

66, 72, 77, 153

Estevez, Octavio 109

F

Farinati, Alicia 163, 166, 169, 171,
173, 187, 189, 191, 197

Ferreyra, Leonardo 95

Fronchkowsky, Beatriz 62

G

García, Myriam 90, 176, 183

Giordano, Miguel 55, 95

Gómez, D. 160

González, Cristina 52, 60, 62, 67, 77

Grenón, Sandra 52, 57, 60, 64, 67,
68, 73, 77, 78, 79, 82, 103, 105,
107, 129, 131, 134, 147, 150,
155, 158

Gutiérrez, Jorge 47

Gutkind, Gabriel 90, 176, 183

H

Husulak, Elizabeth 62, 68, 93, 96,
138, 141, 143, 173, 179, 181,
191, 193, 196, 198, 200, 201,
203, 205, 207, 209, 211

I

Isa, María B. 95

J

Jordá, Graciela 52, 198, 203, 211

Jouve, Mabel 103

Jouve, Mónica J. 122

L

Laczeski, Margarita 93, 179, 181,

183, 205

Lasanta, Gustavo 107

Laussi, Adriana Fernandez 163, 166,
169, 171

Leardini, Nélida 183

Lehman, Erika 93, 181

Lesá, María E. 153

López, Oscar 52, 66

Lubaczewski, Liliana 86, 120, 187,
189, 197

M

Macaya, Hugo 79, 158

Maestre, Jorge 118

Manfredi, E. 114

Manni, A. 112, 135

Martín, Bibiana 90, 176, 183

Martínez, Laura 95

Martínez Vazquez, Francisco 72

Maurel, Daniel 49, 51, 53, 101, 112,
114, 135, 153, 160, 175

Melnichuk, Ana 75

Monte, Raúl 118

Moral, Laura López 127

N

Nader, Olga 49, 51, 53, 101, 153, 175

Nates, Silvia 55, 95

Notario, Rodolfo 49, 51, 53, 55, 95,
101, 112, 114, 135, 153, 160,
175

Novillo, Adriana 49, 51, 53

O

Ørksov, Ida 101

Ortiz, Alba 203, 211

Oviedo, Patricia 73, 82, 96, 109, 116,

129, 134, 138, 141, 143, 155,
173, 179, 181, 191, 193, 196,
198, 200, 201, 203, 205, 207,
209, 211

P

Paez, Mirta 95
Patrito, Esther 101, 153, 175
Paván, Jorge 95
Pegels, Eduardo 52, 57, 60, 64, 67, 68,
73, 77, 82, 93, 96, 116, 127, 129,
134, 138, 141, 143, 147, 150,
155, 163, 166, 169, 171, 173,
179, 181, 187, 189, 191, 193,
196, 197, 198, 200, 201, 203,
205, 207, 209, 211
Picandet, Ana María 49, 51, 53, 101,
114, 153, 160, 175
Pichel, M. 112, 135, 137
Pucciarelli, Amanda 90, 176, 183

Q

Quiroga, Marina 47, 52, 57, 62, 64,
67, 68, 73, 75, 77, 78, 82, 83, 86,
90, 93, 103, 105, 107, 111, 120,
122, 129, 131, 134, 137, 138,
141, 143, 147, 150, 160, 163,
166, 169, 171, 173, 176, 179,
181, 183, 187, 189, 193, 196,
197, 198, 200, 201, 203, 205,
207, 209, 211

R

Rivas, Marta 49, 51, 53, 101, 103,
105, 107, 111, 114, 116, 122,
127, 129, 131, 134, 135, 138,
141, 143, 153, 175

Ruttler, María Elena 203, 207, 211

S

Salvi, Marcelo 90
Schiavoni, Lydia 138, 141, 143
Soares Campos, G. 135
Stefaňuk, Rosanna 93, 179, 201
Suárez, Odelaisy 118
Svennerholm, Anne-Marie 103, 105,
107, 111, 112, 122, 127, 135,
137, 160
Szeftner, Maritzia 49, 51, 53, 101, 153,
175

V

Vergara, Marta 47, 49, 51, 52, 53, 55,
57, 60, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 72,
73, 75, 77, 78, 79, 82, 83, 86, 93,
95, 96, 101, 103, 107, 109, 111,
112, 114, 116, 118, 120, 122,
127, 129, 131, 134, 135, 137,
138, 141, 143, 147, 150, 153,
155, 158, 160, 163, 166, 169,
171, 173, 175, 179, 181, 183,
187, 189, 191, 193, 196, 197,
198, 200, 201, 203, 205, 207,
209, 211
Viboud, Gloria 103, 112, 122, 135,
137
Villalba, Viviana 47, 52, 57, 64, 66,
67, 68, 69, 77, 127, 147, 150
von Specht, Martha 90, 176, 183

Z

Zubreski, Emilce 90, 176, 183

Este libro intenta visibilizar la tarea de investigación que estuvo dirigida a ayudar en disminuir el impacto que en los niños de Misiones tenía esta enfermedad, la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA).

En él se recoge en forma detallada y cronológica esta tarea iniciada por idea de la Dra. Norma Binsztein y su grupo del Instituto C. Malbrán de Bs. As.

Este libro puede ayudar a comprender los diversos caminos o vías utilizadas para acceder al conocimiento para enfrentar la enfermedad y otros procesos epidemiológicos de igual o mayor envergadura en otras regiones.

Gracias a la voluntad, inteligencia y dedicación de un grupo de investigadores pudimos realizar las diversas investigaciones, donde la profundidad y el compromiso de los que en ellas trabajamos, excluye una gran sencillez en la exposición.

Una deuda saldada, ya que se sacrificó esta presentación, ya iniciada hacia la época de las investigaciones, en virtud de poderes exteriores y superiores.

La intención fue no poner un exagerado acento en señalar lo que falta sino, por contraste, en celebrar lo mejor.

marta vergara